



**Shahid Remtula**

Licenciado em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

**Validação de Técnicas de Limpeza de  
Equipamentos de Amostragem na Indústria  
Farmacêutica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Eng.º Carlos Manuel Ferreira Reis Santos, Cipan S.A.

Co-orientador: Prof. Dr. Mário Fernando Eusébio, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof.ª Dr.ª Isabel Maria Rôla Coelho, FCT-UNL

Arguente: Eng.ª Dália Maria Dias Barbosa, Cipan S.A.

Vogal: Eng.º Carlos Manuel Ferreira Reis Santos, Cipan S.A.



FACULDADE DE  
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

**Setembro 2015**





**Shahid Remtula**

Licenciado em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

## **Validação de Técnicas de Limpeza de Equipamentos de Amostragem na Indústria Farmacêutica**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em  
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Eng.º Carlos Manuel Ferreira Reis Santos, Cipan S.A.

Co-orientador: Prof. Dr. Mário Fernando Eusébio, FCT-UNL

Júri:

Presidente: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabel Maria Rôla Coelho, FCT-UNL

Arguente: Eng.<sup>a</sup> Dália Maria Dias Barbosa, Cipan S.A.

Vogal: Eng.º Carlos Manuel Ferreira Reis Santos, Cipan S.A.

**Setembro 2015**



Esta dissertação está escrita sob as regras do antigo acordo ortográfico.



*À minha Mãe*

*Ao meu Pai*

*Aos meus irmãos*

*À Cinthya*

*À minha família*

*Aos meus amigos*

*“The right to hope is the most powerful human motivation I know.”*

*- Prince Shah Karim Al-Husseini, HH Aga Khan IV*



**Validação de Técnicas de Limpeza de Equipamentos de Amostragem na Indústria  
Farmacêutica**

Direitos de cópia © 2015 por Shahid Remtula, Faculdade de Ciências e Tecnologia,  
Universidade Nova de Lisboa.

“A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.”





---

## Agradecimentos

*“É com persistência que se chega ao sucesso”. Tem sido assim o meu trajecto nesta coisa da vida e esta etapa não foi excepção. Muitas foram as “pedras” que pisei, mas nenhuma me fez desistir, e se alguma vez caí levantei-me para andar com ainda mais vontade de chegar ao final! Mas foi sem dúvida com a ajuda de pessoas, autênticos anjos para mim, que foram ajudando a atenuar as dores das “quedas” que fui dando.*

*Obrigado Carlos, foste mais do que um orientador. Faço de ti um amigo para a vida, talvez dos mais bem-dispostos e compreensivos que alguma vez tive.*

*Obrigado ao “pessoal do almoço” (Eng.º Pedro Frazão, Dr.ª Anabela Frazão, Tânia e Ramiro) por tornarem a tarefa de adaptação à empresa bem mais suave e os almoços bem divertidos e cheios de “cultura”.*

*Obrigado Yvan e Dalila, certamente que a nossa amizade irá perdurar independentemente dos tempos e dos caminhos, e eu sou um afortunado por me ter cruzado convosco, nunca me esquecerei de vocês!*

*Obrigado às gentes da Cípan por serem simpáticas e prestáveis. As empresas podem ser pequenas, mas são as pessoas que as fazem enormes!*

*Agradeço ao Prof. Mário Eusébio, por ser sem sombra de qualquer dívida a pessoa mais dedicada e prestável que existe no curso de Engenharia Química da FCT-UNL por vezes até além do que seria necessário. Uma frase simples para si: “Não se esqueça de si professor.”.*

*Obrigado a todos os professores e colegas que me ajudaram a atravessar este caminho... finalmente cheguei ao meu destino e espero que cada um de vocês consiga alcançar todas as suas ambições, independentemente de quais elas forem e que o façam de forma brilhante.*

*Obrigado ao Rui Cabeça, ao Elísio Mata, ao Leandro Parada, ao Fábio Santos, ao Rodolfo Pereira e ao Vítor Silvestre. Vocês foram o “cerne da minha questão”. Fazem parte do que eu chamo de “O meu Clube de Exclusivos” por serem tão ímpares e especiais para mim. Vocês sabem disso, e eu faço questão de vos fazer lembrar disso neste momento tão especial no qual vocês foram cruciais para mim!*

*Obrigado a todos os meus demais amigos e conhecidos, que sempre se disponibilizaram para mim quando mais precisei, todos eles são igualmente importantes para a minha vida e contribuíram para este traçado, sou vos eternamente grato!*

*À minha Família agradeço a todos, mas em especial aos meus Nónás, à minha Madrinha, ao meu Padrinho, à D. Jina, Rosi Maci, Nani Chid, Afzal Mámá e Mamí Vocês sustentaram todas as minhas inseguranças até as mais custosas! Isso ficará para sempre marcado em mim!*

Shafík “então vai só terminar curso ya?” Sabír “eh eh eh, Shahíd já vai ser engenheiro”.  
Obrigado “night walkers” estaremos sempre juntos!

Naná Faruc, sei bem que te alegras por este meu feito e sei bem que deste uma pequenina ajudinha agora no fim... obrigado por teres acreditado sempre em mim!

Obrigado Mana Faritas, és a Princesa do mano. Sabes que posso ser o mais chato e mais irritante... Mas não duvides que serei eu o primeiro a aplaudir tudo o que fizeres! Faço questão disso!

Obrigado Mano Hugo, és o Príncipe do mano, e serás sempre o meu “bébé”.

Pai... que te posso eu dizer? Apesar de todas as circunstâncias desta vida e apesar de tudo o que possa ter acontecido e que possa acontecer, para mim quando me perguntam eu só digo: “Eu amo o meu Pai apesar de tudo!” Pois só eu sei o que sinto a cada abraço que tu me dás. Nem tenho palavras para dizer o quanto quero que sejas feliz. Obrigado!

Minha Cínthya, nós discutimos, choramos, berramos, rimos, alegramos e vivemos, e sempre, sempre nos amamos... tenho a sorte de ter alguém que goste mim como tu gostas. Não sei o que nos reserva o futuro, mas irei fazer de tudo para te fazer feliz, tal como tu mereces e tal como eu te sinto. Obrigado por me apoiares e por me amares!

Cheguei à fase crítica desta secção... cheguei à fase crítica do percurso, à fase crítica da minha vida, do meu destino... à mais importante: Mãe. Mãe. Que dizer desta palavra, Mãe? Serás tu o significado de uma simples palavra que pode para muita gente ter significados tão diferentes? Serás tu o anjo que desde que eu nasci me ensinou como era isto da vida? Passámos situações, brincamos, brigamos... caímos, mas levantamos. Recomeça tudo outra vez! Nos filmes vemos que os super-heróis são quem salvam as pessoas, que têm superpoderes e pensamos que isso é ficção. Pois bem, tu mostraste-nos a todos e continuas a mostrar que ficção é apenas para lá do limite da realidade. Porque se existem pessoas como tu, se tu existes, a ficção apenas é um conceito. Tu és a super-heróina da vida real, e mesmo sem saberes “voar” pegaste “neste menino”, e levaste-o até ao fim. Tu levaste-me avante, fizeste de mim a pessoa que agora sou. Obrigado é pouco Mãe. Se houve coisa que não me ensinaste foi como saber agradecer a pessoas como tu. Não. Não me ensinaste a agradecer-te. Porque não existe forma! Tu foste, és e serás o que todas as Mães devem ser. Tenho a Sorte da Vida por tu existires E agora está na hora de tu seres feliz! Obrigado por seres quem e como és!

Para vocês, deste vosso.

Shahíd.

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”

- Antoine de Saint-Exupéry

---

# Resumo

Uma das complexidades principais da indústria farmacêutica prende-se com a existência de contaminação cruzada sobretudo devido à sua dificuldade de monitorização. É por este motivo que são engendrados esforços por parte das indústrias no sentido de identificar e minimizar todos as fontes que possam constituir um elevado risco de contaminação.

Na Companhia Industrial de Produção de Antibióticos S.A. – Cipan, a validação de limpeza dos equipamentos encontra-se em constante decurso, pelo que a técnica de limpeza dos equipamentos de amostragem necessita igualmente validação especialmente devido ao grau de utilização destes materiais.

Este trabalho visou a validação de limpeza dos equipamentos de amostragem da Cipan. Os passos seguidos para o processamento do presente objecto de estudo foram similares aos efectuados para outro tipo de validação de limpeza (análise de risco, escolha dos piores casos em limpeza, cálculo de limites de aceitação, recolha de amostras para análise (*swab* de pontos críticos e *rinse* de equipamentos) e a execução das análises necessárias à validação (TOC e HPLC)). Foram analisados amostradores de maior e menor porte, espátulas e colheres (ambas de menor porte), e pipetas de maior porte, no sector de armazenamento de matérias-primas. Para o sector das TNE (Transformações Não-Estéreis), analisaram-se amostradores de 1 e 2 câmaras.

Efectuaram-se também estudos no sentido de se perceber como seria o comportamento da instrumentação de TOC face a amostras de águas de lavagem que possuíssem na sua constituição resíduos de detergente utilizado para a lavagem dos equipamentos, estudando-se também a linearidade de resultados obtidos por gamas de valores (cada uma composta por 5 amostras). Para a primeira gama não foram efectuadas análises já que esta se encontrou abaixo do limite de detecção da instrumentação utilizada. Para a segunda gama obtiveram-se os valores de 976,66 ppb; 4654,16 ppb; 8792,36 ppb; 10804,36 ppb e 14423,36 ppb em termos de resultados de TOC. Para a terceira – e última – gama de valores obtiveram-se, em termos de teor de carbono orgânico, 33992,95 ppb; 42300,95 ppb; 47894,95 ppb; 57169,95 ppb e 81259,95 ppb.

No sector de armazenamento, recolheram-se 3 amostras por *swabbing* de amostradores de menor porte previamente sujos com Cloridrato de Tetraciclina e os resultados da análise por HPLC revelaram quantidades abaixo do limite de detecção em dois casos, sendo que noutro caso obtiveram-se 2,9 ppm de resíduo deste composto após o procedimento de lavagem. As análises à amostra do *swab* do amostrador de maior porte revelaram a presença de 58 ppm de Cloridrato de Tetraciclina após a execução da técnica de lavagem.

Para a colher de menor porte obtiveram-se valores abaixo do limite de detecção nos *swabs* utilizados nos dois pontos críticos deste instrumento, cenário que foi repetido para o caso das espátulas de menor porte.

Ainda no sector de armazenamento, as análises de TOC efectuadas às 5 amostras de águas de lavagem (*rinse*) das pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina revelaram um teor em carbono orgânico de 0,90 ppm; 0,70 ppm; 9,86 ppm e 8,92 ppm (em dois dos casos), ao passo que para o mesmo tipo de amostras em pipetas utilizadas em L-Lisina resultaram em 35,66 ppm; 39,06 ppm; 35,79 ppm; 30,69 ppm e 31,18 ppm em teor de carbono orgânico por cada amostra.

O procedimento de *swabbing* aos pontos críticos de amostradores de 1 e 2 câmaras (do sector das TNE's) utilizados na amostragem de Limeciclina traduziram-se em resultados ora inferiores ao limite de detecção, ora inferiores ao limite de quantificação da metodologia de HPLC. Para o amostrador de 2 câmaras utilizado para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina, obtiveram-se os valores de 1,4 ppm; 4,3 ppm; 8,6 ppm; 2,1 ppm e 3,8 ppm na análise de *swabs* por HPLC.

A comparação de resultados permitiu chegar à conclusão de que a técnica de limpeza aplicada aos equipamentos do sector de armazenamento é apenas válida para os amostradores de matérias-primas sólidas, necessitando de adaptações para o caso dos amostradores de matérias-primas líquidas (onde se revelou não válida). Para o sector das TNE, a técnica de lavagem revelou ser válida para a limpeza dos materiais utilizados nesta subunidade fabril.

Os resultados obtidos neste estudo serão assim essenciais para a tomada de medidas por parte da empresa no sentido de adaptar e de revalidar as técnicas em questão, pois só assim será possível garantir uma técnica de lavagem em conformidade com os padrões de validação escolhidos.

**Palavras-chave:** validação de limpeza, lavagem, indústria farmacêutica, amostradores, equipamentos, TOC.

---

## Abstract

*One of the main complexities of the pharmaceutical industry is the existence of cross-contamination mainly due to difficulty of monitoring of this issue. It is for this reason that the industries engender efforts to identify and minimize any sources that may pose a high cross-contamination risk.*

*In Companhia Industrial de Produção de Antibióticos S.A. – Cipan, the cleaning validation procedures are, of course, constant as the cleaning techniques of the sampling equipment practiced in this company need to be validated specially due to the degree of use of these materials.*

*The present work aimed at validating the cleaning techniques of the sampling equipment in Cipan. The steps followed for processing of the present case-study were similar to those made for other types of cleaning validation (risk analysis, worst-case scenario analysis, calculation of cleaning analytical limits, sampling collection for analysis (swabbing of critical points and rinsing of the equipment) and the implementation of the analysis necessary for validation (TOC and HPLC)). The larger and smaller samplers, spatulas and spoons (both smaller) and larger pipettes, were analysed in the sector of storage of raw materials. For the NET (Non-Sterile Transformations) sector, the 1 and 2 chambers samplers were analysed.*

*They were also carried out studies in order to realize what would be the behaviour of TOC instrumentation in the analysis of rinse samples that could have residues of detergent used for washing the equipment, being additionally investigated the linearity of the results obtained by range of values (each one consisting of 5 samples). For the first range of values were not performed any analyses since this range was below the limit of detection of the equipment. In the second range the values of 976,66 ppb; 4654,16 ppb; 8792,36 ppb; 10804,36 and 14423,36 ppb, in terms of TOC results, were obtained. For the third – and final – range, were obtained the values of 33992,95 ppb; 42300,95 ppb; 47894,95 ppb; 57169,95 ppb and 81259,95 ppb.*

*In the section of storage of raw materials, 3 samples were picked up by swabbing of the smaller samplers which were previously soiled with Tetracycline Hydrochloride. The HPLC results revealed quantities below the limit of detection in two cases and 2,9 ppm of residue, of the compound after the washing procedure, in the latter case. The results of the HPLC analysis carried out on swabbing samples of the larger sampler revealed the presence of 58 ppm of Tetracycline Hydrochloride after the washing technique application.*

*For the smaller spoons the values obtained were below the limit of detection, the same situation was repeated for the smaller spatulas.*

*Also in the storage sector, the TOC analyses carried out on the 5 rinse samples of the larger pipettes, previously used in Triethylamine, showed an organic carbon content of 0,90 ppm; 0,70 ppm; 9,86 ppm and 8,92 ppm (in two cases), whereas for the same type of sample, in larger pipettes used in L-Lysine, the analyses resulted in 35,66 ppm; 39,06 ppm; 35,79 ppm; 30,69 ppm and 31,18 ppm of organic carbon content for each sample.*

*The swabbing procedure on the critical points of the 1 and 2 chambers samplers (in the TNE's sector), used before in Lymecycline sampling, rendered results lower than the limit of detection, or below the limit of quantification of the HPLC methodology. For the 2 chambers sampler used in Tetracycline Hydrochloride, the HPLC analyses of the used swabs given the results of 1,4 ppm; 4,3 ppm; 8,6 ppm; 2,1 ppm and 3,8 ppm.*

*The comparison of results has lead to the conclusion that the cleaning technique applied to the samplers in the storage section is only valid for the samplers of solid raw materials, requiring adaptations to the case of samplers of liquid raw materials (which turned out to be not valid). In the NET sector the cleaning technique has proved to be valid for the cleaning of materials used in this manufacturing subunit.*

*The results of this study will, therefore, be essential to the taking of measures by the company in order to adapt and revalidate the techniques in question, once it is only by this way that they may guarantee a washing technique in accordance with the chosen validation standards.*

**Keywords:** *cleaning validation, cleaning, pharmaceutical, samplers, equipment, TOC.*

---

# Índice de Matérias

<b>1.</b>	<b>Contextualização</b>	<b>1</b>
1.1.	O grupo Atral Cipan	3
1.2.	A qualidade enquanto factor intemporal	4
1.3.	A validação de limpeza e as GMP	5
1.4.	Validação de limpeza na Cipan	6
1.5.	Estado da arte de validação de limpeza	6
1.6.	O processo de validação de limpeza	9
1.6.1.	Análise de risco	9
1.6.2.	A escolha do pior-caso	11
1.6.3.	Tipos de limpeza	14
1.6.4.	Níveis de limpeza	15
1.6.5.	Cálculo de limites analíticos e formas de amostragem para validação	16
1.6.5.1.	Cálculo de limites com base em dosagens terapêuticas	17
1.6.5.2.	Cálculo de limites com base em dados de toxicidade	19
1.6.6.	Validação de limpeza em equipamentos de amostragem	20
1.6.7.	Inspecção visual	21
1.6.8.	Análise por carbono orgânico total em validação de limpeza	22
1.6.9.	Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em validação de limpeza	25
1.6.10.	Dirty-hold time e clean-hold time	28
1.7.	Plano Mestre de Validação	30
1.8.	Descrição do presente estudo	31
<b>2.</b>	<b>Metodologias, análises e procedimentos</b>	<b>33</b>
2.1.	Equipamentos de Amostragem	35
2.2.	Análise de risco	43
2.3.	Escolha dos casos de estudo	47
2.4.	Cálculo de limites de aceitação	48
2.4.1.	Matérias-primas sólidas	52
2.4.2.	Matérias-primas líquidas	61
2.4.3.	Princípios-activos nas TNE	66
2.5.	Procedimento de amostragem	67
2.6.	Procedimento de lavagem dos equipamentos de amostragem	68
2.7.	Recolha de amostras de <i>swab</i> e <i>rinse</i>	68
2.7.1.	Breve descrição dos compostos utilizados	72
2.8.	Estudo do comportamento da instrumentação de TOC face à presença de detergente	73
2.8.1.	Preparação do estudo	73
2.9.	Metodologias de análise	75
2.9.1.	Análise por determinação de TOC	76
2.9.1.1.	Calibração do método	76
2.9.1.2.	Adequabilidade do sistema	76
2.9.1.3.	Repetibilidade do método	77

2.9.1.4.	Análise das amostras	77
2.9.2.	Análise por HPLC	77
2.9.2.1.	Análise para a pesquisa de Limeciclina em <i>swabs</i>	77
2.9.2.2.	Análise para a pesquisa de Cloridrato de Tetraciclina em <i>swabs</i>	78
<b>3.</b>	<b>Apresentação, tratamento e discussão dos resultados obtidos</b>	<b>79</b>
<b>3.1.</b>	<b>Resultados e análise do estudo do comportamento da instrumentação de TOC face à presença de detergente</b>	<b>81</b>
3.1.1.	Calibração do equipamento	81
3.1.2.	Apresentação dos resultados obtidos	83
3.1.3.	Tratamento dos resultados da gama 2 (30,88 ppm – 593,67 ppm)	84
3.1.4.	Discussão dos resultados obtidos para a gama 2	85
3.1.5.	Tratamento dos resultados da gama 3 (30,88 ppm – 593,67 ppm)	85
3.1.6.	Discussão dos resultados obtidos para a gama 3	87
<b>3.2.</b>	<b>Resultados e análise dos valores de TOC obtidos por análise de amostras de <i>rinse</i> de equipamento de amostragem</b>	<b>88</b>
3.2.1.	Análise de TOC a amostras de água de enxaguamento ( <i>rinse</i> ) de pipetas de maior porte utilizadas para a amostragem de Trietilamina.	88
3.2.1.1.	Calibração do equipamento	88
3.2.1.2.	Apresentação dos resultados obtidos	89
3.2.1.3.	Tratamento dos resultados	90
3.2.1.4.	Discussão dos resultados obtidos	90
3.2.2.	Análise de TOC a amostras de água de enxaguamento ( <i>rinse</i> ) de pipetas de maior porte utilizadas para a amostragem de L-Lisina.	91
3.2.2.1.	Calibração do equipamento	91
3.2.2.2.	Repetibilidade do equipamento	92
3.2.2.3.	Apresentação dos resultados obtidos	93
3.2.2.4.	Tratamento de resultados	93
3.2.2.5.	Discussão dos resultados obtidos	94
<b>3.3.</b>	<b>Resultados e análise dos valores de HPLC obtidos por análise de amostras de <i>swab</i> de equipamento de amostragem</b>	<b>94</b>
3.3.1.	Apresentação e discussão dos resultados de HPLC de <i>swabbing</i> de equipamentos de amostragem de Cloridrato de Tetraciclina	95
3.3.1.1.	Apresentação dos resultados obtidos	95
3.3.1.2.	Discussão dos resultados obtidos	96
3.3.2.	Apresentação dos resultados de HPLC de <i>swabbing</i> de equipamentos de amostragem de Limeciclina	97
3.3.2.1.	Apresentação dos resultados obtidos	97
3.3.2.2.	Discussão dos resultados obtidos	98
<b>4.</b>	<b>Processo de validação de limpeza dos equipamentos de amostragem</b>	<b>99</b>
<b>4.1.</b>	<b>Constituição dos critérios de validação</b>	<b>101</b>
4.1.1.	Critério de visualmente limpo	101
4.1.2.	Limites de aceitação em amostras de <i>rinse</i> em equipamentos de amostragem de matéria-prima	101
4.1.3.	Limites de aceitação em amostras de <i>swab</i> em equipamentos de amostragem de matéria-prima	103



4.1.4.	Limites de aceitação em amostras de <i>swab</i> em equipamentos de amostragem de produto final	103
4.2.	Comparação dos valores obtidos com os critérios de validação	104
4.3.	Decisão sobre a validação da técnica de limpeza	111
5.	Conclusões	113
6.	Trabalho futuro	117
7.	Referências bibliográficas	121
8.	Anexo 1 – Tabelas auxiliares elaboradas	125
9.	Anexo 2 – Protocolos e Relatórios Internos Elaborados	137



---

# Índice de Tabelas

Tabela 1-1 - Exemplo de uma matriz de análise de risco	10
Tabela 1-2 - Exemplo de uma tabela para escolha do pior-caso de materiais de amostragem em indústria (caso hipotético)	13
Tabela 2-1 - Equipamentos de amostragem e respectivas SESA	35
Tabela 2-2 - Índices de risco para a solubilidade	43
Tabela 2-3 - Índices de risco para a solubilidade (continuação)	44
Tabela 2-4 - Índices de risco para a LD <sub>50</sub>	44
Tabela 2-5 - Pior-caso e melhor-caso de risco	45
Tabela 2-6 - Intervalos de risco e contaminação cruzada	45
Tabela 2-7 - Cálculo do risco de contaminação cruzada das matérias-primas	46
Tabela 2-8 - Cálculo do risco de contaminação cruzada das matérias-primas (continuação)	47
Tabela 2-9 - Tamanho dos lotes de amostragem	48
Tabela 2-10 - Tamanho dos lotes de amostragem (continuação)	49
Tabela 2-11 - Doses diárias estimadas para matérias-primas sólidas	50
Tabela 2-12 - Doses diárias estimadas para matérias-primas líquidas	51
Tabela 2-13 - Doses diárias estimadas para matérias-primas líquidas (continuação)	52
Tabela 2-14 - Áreas de superfície de swabbing e pontos críticos de cada equipamento de amostragem	53
Tabela 2-15 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas sólidas	54
Tabela 2-16 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas sólidas (continuação)	55
Tabela 2-17 - Valores de L <sub>3</sub> para as matérias-primas sólidas	56
Tabela 2-18 - Valores de L <sub>3</sub> para as matérias-primas sólidas (continuação)	57
Tabela 2-19 - Dados para o cálculo de limites de API's utilizados como matéria-prima	58
Tabela 2-20 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 3 câmaras	58
Tabela 2-21 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 5 câmaras	59
Tabela 2-22 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de maior porte	59
Tabela 2-23 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de menor porte	59
Tabela 2-24 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de menor porte.	60
Tabela 2-25 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de maior porte.	60
Tabela 2-26 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de maior porte	60
Tabela 2-27 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de menor porte	61
Tabela 2-28 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas	61
Tabela 2-29 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas (continuação)	62
Tabela 2-30 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas (continuação)	63
Tabela 2-31 - Valores de L <sub>3</sub> para as matérias-primas líquidas	64
Tabela 2-32 - Valores de L <sub>3</sub> para as matérias-primas líquidas (continuação)	65
Tabela 2-33 - Dados para o cálculo de limites de API's nas TNE	66
Tabela 2-34 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's nas TNE em amostradores de 1 câmara	67
Tabela 2-35 - Cálculo de valores de L <sub>3</sub> para API's nas TNE em amostradores de 2 câmaras	67
Tabela 2-36 - Simulação das passagens por água no equipamento	74

<i>Tabela 2-37 - Gamas para a determinação de TOC de Joel®</i>	74
<i>Tabela 2-38 - Concentração de detergente em 500 ml de mistura</i>	75
<i>Tabela 3-1 - Dados da curva de calibração para o TOC de detergente Joel® (dia 1)</i>	81
<i>Tabela 3-2 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação (dia 1)</i>	82
<i>Tabela 3-3 - Parâmetros de resposta de TOC (dia 1)</i>	82
<i>Tabela 3-4 - Dados da curva de calibração para o TOC de detergente Joel® (dia 2)</i>	82
<i>Tabela 3-5 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação (dia 2)</i>	83
<i>Tabela 3-6 - Parâmetros de resposta de TOC (dia 2)</i>	83
<i>Tabela 3-7 - Valores de TOC obtidos para o ensaio com a solução de detergente JOEL ®</i>	83
<i>Tabela 3-8 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para a gama 2</i>	84
<i>Tabela 3-9 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para a gama 3</i>	85
<i>Tabela 3-10 - Dados da curva de calibração para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	88
<i>Tabela 3-11 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	89
<i>Tabela 3-12 - Parâmetros de resposta da instrumentação para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	89
<i>Tabela 3-13 - Valores de TOC obtidos de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	89
<i>Tabela 3-14 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	90
<i>Tabela 3-15 - Dados da curva de calibração para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina</i>	91
<i>Tabela 3-16 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina</i>	91
<i>Tabela 3-17 - Parâmetros de resposta da instrumentação para o TOC de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina</i>	92
<i>Tabela 3-18 - Valores de TOC para a repetibilidade do equipamento</i>	92
<i>Tabela 3-19 - Critérios de aceitação para a repetibilidade do equipamento</i>	93
<i>Tabela 3-20 - Valores de TOC obtidos de amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina</i>	93
<i>Tabela 3-21 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para amostras de rinse em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina</i>	93
<i>Tabela 3-22 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em amostrador de 2 câmaras utilizados em Cloridrato de Tetraciclina, na zona das TNE</i>	95
<i>Tabela 3-23 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em amostradores básicos de menor e maior porte utilizados em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas</i>	95
<i>Tabela 3-24 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em colheres de menor porte utilizadas em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas</i>	96
<i>Tabela 3-25 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em espátulas de menor porte utilizadas em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas</i>	96
<i>Tabela 3-26 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em amostradores de 2 câmaras utilizados em Limeciclina, na zona das TNE</i>	97
<i>Tabela 3-27 - Valores de HPLC obtidos de amostras de swab em amostradores de 1 câmara utilizados em Limeciclina, na zona das TNE</i>	97
<i>Tabela 4-1 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Limeciclina nas TNE</i>	105
<i>Tabela 4-2 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina nas TNE</i>	106

<i>Tabela 4-3 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina no Armazenamento de Matérias-Primas</i>	107
<i>Tabela 4-4 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos auxiliares utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina no Armazenamento de Matérias-Primas</i>	108
<i>Tabela 4-5 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Trietilamina no Armazenamento de Matérias-Primas</i>	109
<i>Tabela 4-6 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Lisina no armazenamento de matérias-primas</i>	110
<i>Tabela 8-1 – Cálculo de valores de <math>L_2</math> para matérias-primas sólidas</i>	127
<i>Tabela 8-2 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para matérias-primas sólidas (continuação)</i>	128
<i>Tabela 8-3 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para matérias-primas líquidas</i>	129
<i>Tabela 8-4 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para matérias-primas líquidas (continuação)</i>	130
<i>Tabela 8-5 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para matérias-primas líquidas (continuação)</i>	131
<i>Tabela 8-6 - Cálculo de valores de <math>L_1</math> para API's utilizados como matéria-prima</i>	132
<i>Tabela 8-7 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 5 câmaras</i>	132
<i>Tabela 8-8 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de maior porte</i>	132
<i>Tabela 8-9 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de menor porte</i>	133
<i>Tabela 8-10 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de menor porte</i>	133
<i>Tabela 8-11 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de maior porte</i>	133
<i>Tabela 8-12 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de maior porte</i>	134
<i>Tabela 8-13 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de menor porte</i>	134
<i>Tabela 8-14 - Cálculo de valores de <math>L_1</math> para API's nas TNE</i>	134
<i>Tabela 8-15 - Comparação de valores entre <math>L_1</math> e 10 ppm para API's nas TNE</i>	135
<i>Tabela 8-16 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's nas TNE em amostradores de 1 câmara</i>	135
<i>Tabela 8-17 - Cálculo de valores de <math>L_2</math> para API's nas TNE em amostradores de 2 câmaras</i>	135



---

# Índice de Figuras

Figura 1.1 - Técnica de swabbing 1 [20]	19
Figura 1.2 - Esquema de análise ao carbono orgânico total por via do método de combustão [23]	23
Figura 1.3 - Esquema de análise ao carbono orgânico total por via do método por oxidação de persulfato [22]	24
Figura 1.4 - Exemplo de um cromatograma [25]	26
Figura 1.5 - Traçado para o cálculo do número de pratos teóricos num cromatograma [25]	27
Figura 2.1 - Parte interior constituinte de uma pipeta de polímero acrílico	36
Figura 2.2 - Parte exterior constituinte de uma pipeta de polímero acrílico	36
Figura 2.3 - Pipeta de polímero acrílico	37
Figura 2.4 - Pipeta de vidro com duas câmaras	37
Figura 2.5 - Pipeta de vidro com uma câmara	38
Figura 2.6 - Copo amostrador I	39
Figura 2.7 - Vara do Copo amostrador I	39
Figura 2.8 - Copo amostrador II	39
Figura 2.9 - Copo amostrador III	40
Figura 2.10 - Espátula de maior porte	40
Figura 2.11 - Espátula de menor porte	40
Figura 2.12 - Colher auxiliar	40
Figura 2.13 - Colher de amostragem de menor porte	41
Figura 2.14 - Colher de amostragem de maior porte	41
Figura 2.15 - Amostrador de 5 câmaras	42
Figura 2.16 - Amostrador de 1 câmara	42
Figura 2.17 - Amostrador de 2 câmaras	42
Figura 2.18 - Amostrador básico de maior porte	42
Figura 2.19 - Amostrador básico de menor porte	42
Figura 2.20 - Swabs Texwipe TX714A®	69
Figura 2.21 - Pontos críticos do amostrador básico de menor porte	69
Figura 2.22 - Pontos críticos do amostrador básico de maior porte	69
Figura 2.23 - Pontos críticos da espátula de menor porte	69
Figura 2.24 - Pontos críticos da colher de menor porte	69
Figura 2.25 - Swabbing do amostrador de menor porte	70
Figura 2.26 - Swabbing do amostrador de maior porte	70
Figura 2.27 - Recolha de amostras de rinse	70
Figura 2.28 - Amostras para a análise em TOC	70
Figura 2.29 - Pontos críticos do amostrador de 1 câmara (Pontos A e B)	71
Figura 2.30 - Ponto crítico do amostrador de 1 câmara (Ponto C)	71
Figura 2.31 - Pontos críticos do amostrador de 2 câmaras (Pontos A, B, C e D)	71
Figura 2.32 - Ponto crítico do amostrador de 2 câmaras (Ponto E)	71
Figura 2.33 - Swabbing do amostrador de 1 câmara	71
Figura 2.34 - Swabbing do amostrador de 2 câmaras	72
Figura 2.35 - Cuba de lavagem de equipamento	74





---

## Acrónimos, abreviaturas e siglas

<b>AAW -</b>	Adult Average Weight
<b>ADI -</b>	Acceptable Daily Intake
<b>API -</b>	Active Pharmaceutical Ingredient
<b>APIC -</b>	Active Pharmaceutical Ingredients Comitee
<b>BSSP -</b>	Batch Size of Subsequent Product
<b>CBSA -</b>	Ácido p-Clorobenzenosulfónico
<b>CIP -</b>	Cleaning In Place
<b>COP -</b>	Cleaning Out of Place
<b>CPME -</b>	Ciclopentil Metil Éter
<b>DBAD -</b>	Dibenzil Azodicarboxilato
<b>EDTA -</b>	Ácido Etileno Diamino Tetraaceético
<b>FDA -</b>	Food and Drug Administration
<b>FMEA -</b>	Faillure Mode and Effects Analysis
<b>FMECA -</b>	Faillure Mode, Effects and Criticallity Analysis
<b>GMP -</b>	Good Manufacturing Pratices
<b>HPLC -</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>HS -</b>	Índice de Risco relacionado com LD <sub>50</sub>
<b>IC -</b>	Inorgânic Carbon
<b>ICH -</b>	International Conference on Harmonization
<b>LD<sub>50</sub> -</b>	Lethal Dose on 50% of the population
<b>LOA / LA -</b>	Limit Of Acceptance / Limite de Aceitação
<b>LOD / LD -</b>	Limit Of Detection / Limite de Detecção

<b>LOQ / LQ -</b>	Limit Of Qualification / Limite de Qualificação
<b>LSP -</b>	Limit on Subsequent Product
<b>MACO -</b>	Maximum Allowable Carryover
<b>MIBK -</b>	Metilisobutilcetona
<b>MSA -</b>	Ácido Metanosulfônico
<b>NASA -</b>	National Aeronautical and Space Administration
<b>NDIR -</b>	Non Dispersive Infra-red Ray
<b>NOEL -</b>	No Observable Effects Level
<b>NPOC -</b>	Non-Purged Orgânico Carbon
<b>OoS -</b>	Out of Specification
<b>PIC -</b>	Pharmaceutical Inspection Convention
<b>PM -</b>	Peso Molecular
<b>POC -</b>	Purged Orgânico Carbon
<b>PTSA -</b>	Ácido p-Toluenosulfônico
<b>RPN / FRP-</b>	Risk Priority Number
<b>S -</b>	Índice de Risco relacionado com Solubilidade
<b>SESA -</b>	Shared Surface Area
<b>S<sub>f</sub>-</b>	Safety Factor
<b>SIP -</b>	Sterilizing In Place
<b>TC -</b>	Total Carbon
<b>TNE -</b>	Transformações Não-Estéreis
<b>TOC -</b>	Total Orgânico Carbon
<b>VMP -</b>	Validation Masterplan
<b>WIP -</b>	Washing In Place

---

# Enquadramento e Motivação

**N**a indústria farmacêutica o controlo e a monitorização da qualidade necessitam de ser coesos e rigorosos de forma a poder identificar, minimizar ou mesmo eliminar quaisquer fontes de contaminação mantendo o sistema de produção seguro e fiável tanto para o processo em questão, quanto para o consumidor final.

São então exaustivamente estudadas formas de poder eliminar quaisquer vestígios de resíduos, elaborados relatórios, definidos procedimentos necessários para efectuar uma limpeza correcta de todos os equipamentos e, por fim, compiladas instruções técnicas que permitirão a reprodução dos passos de limpeza sempre que seja necessário.

No entanto, após a elaboração de instruções e de técnicas de limpeza, é necessário o recurso a procedimentos de validação que irão permitir avaliar os procedimentos efectuados, verificando a eficiência destes, sendo esta análise crucial para averiguar se determinada técnica é eficaz e se a proficiência do técnico é a adequada, evitando desde aqui quaisquer riscos que possam surgir devido a uma eventual contaminação cruzada, nociva para o processo produtivo.

Assim sendo, enquanto a técnica de limpeza é determinante para o bom funcionamento de uma indústria farmacêutica e requer o cumprimento de parâmetros tanto a nível quantitativo, como a nível qualitativo, a validação da limpeza enquadra-se no capítulo da avaliação dessa técnica sendo que, no sentido mais abrangente, a validação de limpeza define-se como *“uma evidência devidamente documentada de que um processo de limpeza, previamente aprovado, providência equipamentos prontos a serem utilizados com segurança, e com o menor grau de risco de contaminação, tanto em processos farmacêuticos de produção de produtos de consumo final, como em processos de produção de API’s (Active Pharmaceutical Ingredient – Princípio activo farmacêutico)”* [1].

Os equipamentos de amostragem são instrumentos que auxiliam nas tarefas de amostragem de produtos tanto em secções de armazenamento de matérias-primas, amostrando produto que chega de fornecedores para verificar a conformidade dos mesmos, como também em secções de processamento de produto final de forma a fornecer informações sobre a qualidade dos produtos que são produzidos.

Tem sido uma exigência frequente, e um assunto cada vez mais abordado em auditorias, a validação de limpeza dos equipamentos que são utilizados para a amostragem, sobretudo devido à frequente execução de procedimentos de amostragem, já que se por um lado as matérias-primas se encontram constantemente a chegar, por outro os produtos finais estão em constante produção,

o que é ilustrativo da quantidade de amostragens a efectuar nos sectores envolvidos elevando, por este motivo, o risco de contaminação cruzada.

É com base neste motivo que é considerado de elevada importância a elaboração de um estudo que revele se a técnica de limpeza aplicada aos materiais de amostragem é válida ou não, remetendo para as secções competentes a averiguação e a análise dos resultados obtidos com o intuito de serem tomadas medidas no sentido de aumentar a fiabilidade dos procedimentos efectuados.

## 1. Contextualização

---



## 1.1. O grupo Atral Cipan

A Atral iniciou-se no mercado com o nome de A. Travassos Lda., uma modesta farmácia de Alcântara fundada na década de 40 e que rapidamente se tornou num laboratório de medicamentos, mas que, por via dos tempos, entrou em falência técnica. Foi então chamado à gerência o Comendador Sebastião Alves, um antigo estudante de medicina e um empregado da farmacêutica naquele tempo. A concorrência era escassa, mas essencialmente comandada por quatro empresas suíças e doze empresas portuguesas que competiam para alcançar sucesso no mercado farmacêutico já que as carências de saúde provocadas pela guerra mundial tinham potenciado o crescimento do consumo em fármacos.

A mudança de gerência, aliada à necessidade de dinâmica empresarial e ao talento do Comendador, permitiram a saída da situação de falência da empresa e assim, após o estudo de alternativas que fossem benéficas para o futuro próximo da mesma naquela altura, optou-se por avançar com a expansão para a África e para a Ásia em 1949 e, logo depois, para a América Latina [2]. Acompanhando esta aposta a vida da empresa ganha então novo ímpeto com a contratação de mais técnicos e com o aumento do volume de negócios, tornando-se assim numa indústria farmacêutica nacional de renome.

Com o aumento das vendas as necessidades de matéria-prima (API's) aumentaram igualmente, sendo equacionado o respectivo fabrico em 1956. Em 1958, as instalações da indústria são reconhecidas e aprovadas pela FDA, permitindo a exportação para um subcontinente muito populoso e, consecutivamente, um grande impulsionador de crescimento de receitas para a recente empresa – a América do Norte.

Em 1963, após o início de produção da Companhia Industrial de Produção de Antibióticos (Cipan), o novo (e actual) complexo fabril da Atral Cipan fica concluído sendo nesta altura igualmente possível a produção de API's. Estes produtos são depois homologados pela FDA, dois anos mais tarde, em 1965.

Em 1987, a Cipan era já uma empresa que englobava a produção de 8 tipos de antibióticos por fermentação e 4 por semí-síntese. O que tornou esta indústria numa fábrica de API's bem estabelecida a nível mundial. Por outro lado, a Atral concretizava negócios igualmente volumosos destacando ainda mais a sua preponderância no sector farmacêutico.

A evolução do grupo empresarial foi sendo processada nas duas décadas seguintes, sendo que em 2006, a administração do grupo Beirafina SGPS (que inclui, entre outras empresas, a Atral, a Cipan, a Cibran, a Cequisa e a Prinmon) é constituída e profissionalizada.

Actualmente, em 2015, a Atral Cipan é uma empresa exportadora para os maiores continentes consumidores de produtos farmacêuticos, ocupando uma posição de destaque neste mercado. O grupo Beirafina SGPS e é constituído pelos laboratórios Atral S.A., pela Cipan S.A., pela Vida S.A., pela Pharbal (Peru) e pela i.Gen Lda. [3].

## 1.2. A qualidade enquanto factor intemporal

A qualidade é sem dúvida o parâmetro mais crítico para uma indústria, ainda que não esteja directamente relacionada com o funcionamento desta. A história da aplicabilidade de métodos de controlo de qualidade remonta a datas bem recuadas na História, mas foi a partir da revolução industrial (séc. XIX) que o controlo de produtos e do processo de fabrico dos mesmos começou a ter um papel mais preponderante na indústria [4].

Antes, em 2150 A.C., na Babilónia, o rei Hamurabi primava pela solidez das habitações construídas sendo que, se uma casa construída desabasse matando o proprietário da mesma, o construtor seria morto por imolação, sendo esta uma forma de sentença pela sua incompetência. Esta norma é uma das que vêm escritas no conhecido como “Código de Hamurabi” [5].

Já os fenícios (1500 A.C.) amputavam as mãos dos fabricantes de produtos que fossem defeituosos e que não estivessem dentro das especificações governamentais mostrando-se, também aqui, uma preocupação pela qualidade de produtos fabricados [6].

Aqui ficaram demonstradas duas práticas de controlo de produção, ainda que estas fossem eticamente incorrectas e impensáveis de aplicar nos tempos actuais.

Avançando um pouco mais no tempo, já no séc. XIX, no continente americano, as preocupações com a qualidade dos produtos e dos processos começam a ser levadas em conta pelos artesãos que se subdividiam em mestres e em aprendizes. Os mestres seriam os responsáveis por ensinar aos aprendizes as técnicas de fabrico de forma a poder homogeneizar os produtos, a personalizá-los de acordo com o comprador, controlando a produção para que não houvesse variações que pudessem por em causa a qualidade do produto final [4].

Com a revolução industrial, o fabrico de produtos começou a ser efectuado em larga escala, sendo que as preocupações eram, agora, de produzir com eficiência e com o menor grau de variação. Um dos pioneiros na aplicação de métodos de controlo da produção foi Eli Whitney, um chefe de produção de uma fábrica de mosquetes. Também Frederick Winslow Taylor, um engenheiro mecânico de renome, foi outro dos que mais contribuíram para o avanço da produtividade com



qualidade e com eficiência em termos industriais, este contribuindo com chamado Sistema de Taylor [6].

Henry Ford e Karl Friederich Benz, dois nomes muito importantes a nível industrial naquela altura, também aplicaram métodos de controlo de qualidade nas suas empresas.

Nos dias de hoje, a qualidade industrial é um factor crucial e, em quase todos os aspectos, decisivo para o bom funcionamento de uma indústria, já que é apenas assim que os parâmetros das entidades reguladores, são satisfeitos, priorizando sempre a qualidade do produto final, dando-se assim cada vez mais ênfase ao factor qualidade em termos industriais.

### 1.3. A validação de limpeza e as GMP

As *Good Manufacturing Practices* (GMP) ou Boas Práticas de Fabrico foram normas emitidas com o nome de 21 CFR 211 – *Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals* pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 1978 e que visavam o controlo de qualidade de processos, bem como a primazia pela eficácia e eficiência de acções efectuadas dentro de uma indústria, sempre com a segurança do produto final como objectivo principal [7]. Estas normas foram atentamente seguidas pelas organizações semelhantes em outros países pelo que começou a existir a necessidade de harmonização e homogeneidade de normas nos países produtores de fármacos e de API's. Foi com este objectivo que a *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration Of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) emite, em 2000, o documento Q7 que estabelece um padrão regulamentar mínimo comum a todas as empresas produtoras de API's – já que a documentação em validação de limpeza neste tipo de processos era pouco homogénea. De forma a garantir a qualidade do processo produtivo de API's este guia deve ser aplicado por estas organizações com o objectivo de impedir não só a não-conformidade dos produtos finais, mas também de promover a integridade do processo produtivo, bem como a eficiência, a estabilidade e a fiabilidade do mesmo.

A validação da limpeza é recomendada na Q7 como sendo uma prática aconselhada, de forma a avaliar se o processo de limpeza foi correctamente efectuado. Naquela *guideline* estão também patentes as diferentes maneiras de limpeza e de lavagem dos materiais de um determinado processo sendo que todas estas práticas devem ser orientadas para situações processuais onde o risco de contaminação é alto pondo em causa a qualidade do produto final – que, no caso do presente trabalho, é o API (Ingrediente Farmacêutico Activo ou apenas princípio-activo – *Active Pharmaceutical Ingredient*) [8].

## 1.4. Validação de limpeza na Cipan

Na Cipan, tal como acontece em qualquer indústria ligada do sector farmacêutico, a validação de limpeza é de extrema e crucial importância já que, como referido anteriormente, quaisquer contaminações que possam existir (sejam elas cruzadas ou de um lote anterior do mesmo produto) podem resultar na presença de resíduos que prejudicam a qualidade dos produtos finais produzidos.

Os departamentos responsáveis pela elaboração da validação de limpeza de todo o equipamento são o Departamento de Controlo de Qualidade e o Departamento de Planeamento, Operações e Logística. Estes dois departamentos trabalham em sincronia coordenando todas operações de lavagem, recolha de amostras e análise das mesmas e dos respectivos resultados, bem como a elaboração de todos os protocolos e relatórios de validação inerentes ao processo de validação de limpeza.

## 1.5. Estado da arte de validação de limpeza

A elaboração de validação de limpeza no sector industrial é relativamente recente. No final dos anos 70 / início dos anos 80, a FDA tornou públicas as suas políticas de validação de processos o que forçou todas as companhias auditadas por esta organização a seguir as normas fornecidas. Para além da validação de processos, houve ainda algumas empresas que aprofundaram mais o capítulo da validação e elaboraram validações de limpeza dos equipamentos utilizados nos processos de fabrico. Em 1984, através do trabalho elaborado por Samuel Harder, com o artigo *“The Cleaning Validation Procedures”*, foi possível ter um primeiro *overview* sobre os chamados limites de aceitação. Segundo aquele artigo, estes limites teriam de ser *“práticos e atingíveis por um processo de limpeza razoável”* e necessitariam de ser *“seguros, aceitáveis e de estarem de acordo com os limites de resíduos estabelecidos para várias substâncias e alimentos.”* [9].

No entanto foi anos mais tarde, em 1988, que a FDA começou a focalizar as suas auditorias no campo da contaminação cruzada, muito por força de um caso que despoletou grande alarme. Uma companhia de produção de um API baseado numa resina de colestiramina necessitou de recolher todos os lotes de produto acabado devido a uma contaminação detectada. Este produto final estaria então contaminado com resíduos de um pesticida industrial, já que um dos equipamentos utilizados na produção daquele API teria sido anteriormente utilizado para a produção do referido pesticida.

Este processo foi o suficiente para a tomada de acções por parte da organização reguladora americana que começou a exigir a validação de processos de limpeza, para além da limpeza de processos já exigida [9].

Em 1989, Doug Mendenhall, dos Laboratórios *Abbott*, publicou um artigo onde complementou a informação anteriormente publicada por Harder. Segundo o membro daquela indústria, para além das ideias introduzidas pelo seu homólogo, poder-se-iam também utilizar, entre outros, instrumentos de análise que consistiam basicamente na observação directa dos equipamentos, e foi também introduzido o cálculo de limites com base no tamanho de *batch* e na dose máxima para cada produto [9].

Até aos dias de hoje, os princípios explicitados nos referidos artigos são aplicados, sendo a partir destes obtidos os valores que serão passíveis de serem validados.

Em 1992, uma auditoria aos Laboratórios *Barr* culminou com um processo-crime que opunha a *FDA* àquela indústria, tendo este terminado com a condenação da referida companhia. Neste caso, o juiz deliberou que todo processo de limpeza industrial teria obrigatoriamente de ser validado e, como consequência pela falta de validação da mesma aquando do fabrico de um determinado medicamento (que já estava a ser comercializado), todos os lotes do mesmo teriam de ser retirados da venda ao público [10]. Este caso levantou grandes questões sobre o que deveria ser, e como deveria ser efectuada, a validação de limpeza industrial. A pressão sobre as indústrias no sentido de terem políticas de validação de limpeza bem definidas aumentou sendo que as auditorias começaram a incidir muito mais neste tema [9].

Neste âmbito, a PhRMA (*Pharmaceutical Manufacturers Association*) lança então questionários de forma a saber como é efectuada a validação em cada empresa e quais os focos onde é necessário haver uma maior atenção, sobretudo no campo dos limites de aceitação utilizados. Deste estudo foi possível concluir que os parâmetros utilizados pelas empresas questionadas eram díspares e inconsistentes e os critérios igualmente distintos [9]. O questionário elaborado por aquela instituição reforçou mais ainda a necessidade de clarificação sobre como teria de ser elaborada uma validação de limpeza correcta e que fosse de encontro com todos os pontos regulamentados.

Em 1993, a empresa Eli Lilly aprofundou estudos em cálculos de limites de dosagens de um produto em outro subsequente. Estes estudos, levados a cabo por Gary Fourman e Mike Mullen, introduziram a ideia de que não poderia existir mais do que 0,001 da dose de um produto anterior numa dose máxima de um produto seguinte; que uma quantidade não superior a 10 ppm de produto anterior poderia estar presente num produto seguinte e que não poderiam existir vestígios visíveis de resíduos após a limpeza de um equipamento utilizado para produção [11].

Ainda relativamente ao caso Barr, a FDA foi criticada pela falta de detalhe das GMP já que, ainda que fossem dadas instruções acerca de quais as boas práticas analíticas e industriais a tomar, as mesmas eram muito vagas e com um nível de detalhe pouco evidenciado, o que poderia levar a que diversas empresas não entendessem exactamente como as colocar em prática, prejudicando as avaliações aquando da realização de auditorias às mesmas. Isto levou a que a FDA reformulasse o documento emitido, dando instruções mais detalhadas, e promovendo normas mais direccionadas para empresas produtoras de alguns produtos – a norma 211.208.

Anos mais tarde, os inspectores da FDA emitem e põem em prática um guia de validação de limpeza. Neste guia estão todas as recomendações e todos os focos sobre validação de limpeza que são avaliadas, sendo que este guia serviu também para a publicação de várias outras regulamentações sobre validação de limpeza a nível global, como as emitidas pela APIC (Active Pharmaceutical Ingredients Committee); PIC (Pharmaceutical Inspection Convention); e mesmo as emitidas pela ICH.

Em 1993, a ICH publica as Q7 que davam orientação e instrução de forma a ser possível garantir a conformidade de regulamentação aplicada numa indústria de API's com a legalidade em vigor.

Num artigo publicado em Julho de 2005 na Journal of GXP Compliance Troy Fugate e David B. LaTart analisam de forma crítica as GMP emitidas pela FDA. Segundo aquele artigo, das seis divisões das GMP (Qualidade; Instalações e Equipamentos; Materiais; Produção; Controlo Laboratorial; Embalagem e Rotulagem) apenas as divisões de Controlo Laboratorial e de Produção não possuem regulamentação específica para limpeza. No entanto, no que concerne por exemplo ao Controlo Laboratorial, a falta de normas específicas pode levar a que se obtenham resultados analíticos fora de especificação (*OoS Results*) tornando-se esta numa das limitações das GMP emitidas pela FDA [12].

Dois anos mais tarde em 2007, a PIC emite as “*Recommendations on Validation Master Plan; Installation and Operational Qualification; Non-Sterile Process Validation; Cleaning Validation*” que visaram o fornecimento de recomendações para os diferentes tipos de validação em processos produtivos.

Mais recentemente, em Maio de 2014, a APIC lança a “*Guidance on Aspects of Cleaning Validation in Active Pharmaceutical Ingredient Plants*” que pretende dar mais informações acerca de que medidas são necessárias tomar de forma a efectuar uma validação de limpeza correcta dentro de uma companhia produtora de API's.

Actualmente, em 2015, os processos de validação de limpeza continuam a ser melhorados e alvos de reajustes, sobretudo no campo da produção de API's, sendo que as informações fornecidas pelas entidades reguladoras são ainda vagas.

São assim necessários a pesquisa e o desenvolvimento de estudos pois estes serão cruciais para a obtenção de dados concretos que traduzam a validade ou a não-validade das técnicas de lavagem e de limpeza num sector industrial tão sensível a alterações pequenas como é o sector farmacêutico.

## **1.6. O processo de validação de limpeza**

A validação de limpeza, de encontro com a sua definição e à semelhança de todos os processos de avaliação, necessita de documentação onde estejam patentes todos os passos para elaborá-la. Esta documentação compreende os protocolos de validação bem como os relatórios correspondentes de forma a perceber quais os resultados obtidos e se a limpeza dos equipamentos é de facto validada ou não. Sem prejuízo da qualidade de cada análise a ser efectuada, as metodologias adoptadas em cada processo de validação podem ser variadas, no entanto, os passos fundamentais têm de ser necessariamente os mesmos, para que os resultados finais possam servir de termo de comparação entre as diferentes formas de validação e, caso existam desvios, aferir qual ou quais os passos de validação que podem ser passíveis de introduzir essas diferenças.

### **1.6.1. Análise de risco**

De acordo com o tipo de validação esta análise pode ser efectuada ou não. De entre um número determinado de equipamentos limpos de uma determinada forma é importante distinguir os que envolvem mais risco (i.e. os que podem acarretar um maior risco de contaminação; os que envolvem uma maior profundidade de limpeza; etc.) de forma a ser possível escolher o pior caso em limpeza.

Este tipo de análises é conhecido por análise de risco e é normalmente efectuada com recurso ao método FMEA (*Failure Mode and Effects Analysis*) ou FMECA (*Failure Mode, Effects and Criticallity Analysis*) que são métodos de análise que servem como ferramentas que identificam as causas, as probabilidades de ocorrência dessas falhas e a sua gravidade. Estas ferramentas são muito utilizadas para conferir fiabilidade aos processos, reflectindo essa mesma característica aos produtos produzidos.

Estas análises começaram por ser implementadas na década de 60 pela NASA (*National Aeronautics and Space Agency*) – a agência espacial norte-americana – durante as missões Apollo [13]. Mas foi em 1974, que a marinha norte-americana lança a *MIL-STD-1629*, um boletim sobre a utilização de FMEA em termos militares e que serviu como *guideline* para a implementação deste tipo de análises a nível industrial. Neste documento, indica-se que a FMEA/FMECA necessita de ser “*iterativa e de corresponder à natureza do processo ao qual é aplicada*” [14].

Actualmente, as análises são implementadas em grande parte do sector industrial e permitem a identificação dos riscos associados à produção e à concepção de diversas actividades, sobretudo a nível interno.

A aplicação desta ferramenta ocorre inicialmente com a constituição de uma equipa que irá efectuar o estudo dos efeitos que cada falha irá ter analisando individualmente os pontos cruciais que sofrem o efeito desses eventos, estudando também a probabilidade de ocorrência de cada um e as suas criticidades [15].

A análise é composta por quatro elementos fundamentais: a identificação dos riscos; as respectivas probabilidades de ocorrência desses riscos; a severidade de cada falha e a possibilidade de detecção. Após a identificação dos riscos, as parcelas são então introduzidas numa matriz onde será atribuída uma determinada pontuação consoante o índice seja mais alto ou mais baixo em cada item. Numa coluna final, localizada à mais à direita na matriz, é colocado o valor do factor de risco prioritário (FRP) ou *Risk Priority Number* (RPN) que é o índice que permitirá avaliar quais os riscos mais perigosos para a actividade de estudo. Em seguida exemplifica-se uma matriz de risco [15]:

**Tabela 1-1 - Exemplo de uma matriz de análise de risco**

Eventos	Ocorrência (O)	Severidade (S)	Detecção (D)	$RPN = S \times O \times D$
Evento A	1	3	9	27
Evento B	7	1	3	21
Evento C	1	9	5	45

Repare-se que o RPN associado ao Evento C é mais elevado e, por isso, será o evento que necessitará de uma maior atenção por parte da indústria. De seguida, o Evento A vem como prioridade seguinte. O Evento B é o que possui um índice RPN menor e assim é o que menor risco acarreta para a actividade em desenvolvimento. A ordem de tomada de acções, por ordem decrescente, é então:

Evento C > Evento A > Evento B

É importante referir que não existem valores para os quais se considere necessário ou não a tomada de acções pelo que esta medida deve ser sempre efectuada. De notar que quando dois ou mais eventos possuem RPN's de valor igual, priorizar-se-á aqueles que possuírem o índice de severidade mais alto e, quando existirem eventos com índice de severidade igual, terá prioridade o que for de ocorrência maior, sempre procurando encontrar uma ordem decrescente para a tomada de acções.

Conforme o sector de aplicação industrial, existem várias formas de FMEA [16]:

- Sistema – É essencialmente direccionada para partes globais de sistemas;
- Processo – Analisa as falhas dos processos de fabrico e servem e sobretudo para identificar fontes de risco e para ajudar a melhorar os processos;
- Serviços – Este tipo de análises serve essencialmente para processos de montagem e de fabrico;
- *Software* – São aplicadas em programas informáticos e software;
- Produto – São FMEA's aplicadas na fase de *design* de um produto onde são revistas as especificações do mesmo. Aqui as falhas analisadas focam-se sobretudo nos equipamentos sendo parte integrante num processo de desenvolvimento.

Como elucidado no início deste campo, em validação de limpeza a análise de risco é utilizada para definir quais os piores casos em limpeza de forma a poderem ser estes os escolhidos para a elaboração da validação. A escolha do pior-caso é então ilustrada no subcapítulo seguinte.

### 1.6.2. A escolha do pior-caso

De forma a avaliar e a validar um determinado número de processos de limpeza, e já que a validação individual de cada um dos casos requeria tempo e um aumento do uso de recursos comprometendo a eficiência da validação, o passo inicial passa necessariamente pela determinação do pior caso em limpeza. Esta escolha irá, de certa forma, permitir a exclusão da validação de outros processos de limpeza uma vez que, sendo este o caso mais extremo de limpeza que possa existir, e como os outros processos de limpeza são supostamente menos complexos, estes ficam, na maioria das situações, igualmente validados, o que torna a validação num processo substancialmente mais rápido.

Este tipo de análise é normalmente antecedido pela análise de risco, no entanto, não é dependente desta já que a segunda nem sempre é elaborada.

A escolha é sempre antecedita de uma primeira observação e contagem de todos os elementos de análise que existam. Esta é a fase menos complexa e que envolve menos recursos do que as precedentes já que, por norma, o trabalho é essencialmente de observação e escrita, mas é esta fase que servirá de base para a escolha do(s) pior(es) caso(s). Os dados recolhidos variam muito e são obtidos conforme o tipo de análise que se necessite de efectuar. No caso da validação de limpeza em equipamentos de amostragem industrial os dados recolhidos podem ser, entre outros: medidas de áreas, fotografias de equipamentos, tipo de manuseamento, frequência de utilização e utilização de equipamentos para um ou mais tipos de substâncias. Frequentemente são utilizadas estratégias de agrupamento ou *bracketing* de forma a poderem ser distinguidas estratégias de acção comuns a cada grupo de equipamentos se os mesmos forem semelhantes [17]. Esta estratégia é um resultado da primeira fase da análise de risco e servirá como instrumento de simplificação desta análise.

O segundo passo é o de caracterização de todos os casos de análise com base nas características inerentes a cada caso. Desta análise resultam os elementos concretos que irão servir de base para a elaboração de tabelas que irão permitir determinar qual (ou quais) o(s) pior(es) caso(s).

Em validação de limpeza, a escolha dos piores casos por ser igualmente elaborada em termos de substâncias a processar nos equipamentos, focalizando-se nas características desses compostos (ex.: estado físico, solubilidades, viscosidades, resistência a vários tipos de lavagem, etc.), ou recorrendo-se às características dos equipamentos (ex.: tipo de matérias a manusear/processar com o equipamento, acessibilidade de pontos críticos, frequência de utilização, etc.)

Em seguida, apresenta-se, como exemplo de um caso hipotético, uma tabela de análise para a determinação do pior-caso de forma a ser mais elucidativa a compreensão deste processo.

Analisando a tabela, de forma a começar a escolher o pior caso, seria interessante dividir o tipo de equipamentos em dois grupos: equipamentos de amostragem de substâncias sólidas; equipamentos de amostragem de substâncias líquidas. Serão também de excluir os equipamentos dedicados apenas a uma substância já que o risco de contaminação cruzada é nulo estes materiais (equipamentos A, E e F)<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> De notar que não foi contemplado o possível risco de contaminação por agentes de limpeza que, naturalmente, tem influencia em validação de limpeza.



**Tabela 1-2 - Exemplo de uma tabela para escolha do pior-caso de materiais de amostragem em indústria (caso hipotético)**

<b>Tipo de Equipamento</b>	<b>Área de Contacto (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Material de Fabrico</b>	<b>Acessibilidade de P<sup>tos</sup>. Críticos</b>	<b>Freq. de Utilização</b>	<b>Tipo de Lavagem</b>	<b>Nº de Subst. Amostradas</b>	<b>Tipo de Subst.</b>
Equip. A	123	Alumínio	Média	Baixa	Automática	1	Sól.
Equip. B	50	Polímero	Elevada	Alta	Manual	5	Líqu.
Equip. C	250	Polímero	Baixa	Média	Manual	4	Líqu.
Equip. D	100	Polímero	Baixa	Alta	Manual	6	Líqu.
Equip. E	90	Vidro	Elevada	Baixa	Automática	1	Líqu.
Equip. F	98	Vidro	Baixa	Média	Automática	1	Líqu.
Equip. G	76	Alumínio	Baixa	Alta	Manual	5	Sól.
Equip. H	80	Alumínio	Elevada	Alta	Manual	9	Sól.
Equip. I	156	Alumínio	Baixa	Alta	Manual	9	Sól.

De entre os equipamentos que processam substâncias sólidas, os equipamentos que apresentam um maior risco de contaminar outras substâncias são os equipamentos H e I, pelo que estes são os que devem ser tomados em consideração como piores casos. No entanto, já que a acessibilidade aos pontos críticos é baixa no equipamento H e alta no equipamento I, elevando no primeiro o risco de permanecerem resíduos após a lavagem, fica então o equipamento H como o pior caso em lavagem para equipamentos de amostragem de sólidos.

Para as substâncias líquidas, e após a exclusão dos equipamentos E e F, os que apresentam um risco mais elevado de contaminação cruzada são os equipamentos B, C, D e G. Preferencialmente, os equipamentos B e G, apesar de apresentarem um risco de contaminação cruzada elevado, não se podem comparar ao equipamento D em que, para além de processar uma substância a mais que os anteriores equipamentos, possui uma acessibilidade baixa aos pontos críticos, sendo este o pior caso em limpeza nos equipamentos de amostragem de líquidos.

Releva-se que tanto para a análise de risco, como para o processo de escolha dos piores-casos, a forma de elaboração de análise não é vinculativa a um tipo restrito de parâmetros, nem aos equipamentos a serem analisados, ou seja, a análise de risco e a escolha dos piores casos são

sobretudo dependentes do contexto onde são efectuadas, podendo os parâmetros de análise ser outros conforme as suas aplicações, contexto fabril, tipo de equipamentos, entre outras características aplicáveis a esta forma de análise, sendo os exemplos apenas apresentados a título exemplificativo. Importa igualmente referir que as análises assentam em parâmetros qualitativos específicos e inerentes aos equipamentos aos quais são aplicadas, sendo este um factor que influencia, em certa medida, os resultados das análises efectuadas.

### 1.6.3. Tipos de limpeza

A limpeza de equipamentos é uma das operações mais importantes em termos industriais. Neste procedimento, os resíduos deixados por cargas anteriores (sejam eles de matérias-primas, produtos inacabados, produtos secundários, produtos finais) são removidos e os equipamentos preparados para a sua utilização no processo seguinte.

Existem vários tipos de limpeza, cada um adequado ao tipo de material existente dentro do equipamento utilizado, tendo se sempre em conta o que irá ser processado com o que foi processado, procurando-se remover quaisquer vestígios existentes de material processado anteriormente, evitando o risco de contaminação.

Assim, os tipos de assepsia de equipamentos industriais existentes são divididos em [18]:

Limpeza manual – É, de forma básica, a limpeza presencial de equipamentos com o auxílio a esfregação e a máquinas de pressão [17];

Lavagem por imersão – Consiste na imersão de equipamentos em solução de lavagem com detergentes ou similares [17];

Dentro destes dois tipos podem igualmente ser praticados os seguintes métodos de limpeza [17]:

Limpeza no local (*Cleaning in-place – CIP*) – Este tipo de limpeza consiste na limpeza do equipamento sem desmontá-lo por completo, envolvendo o mínimo de recursos e o mínimo de pessoal para a realização desta tarefa, já que é habitualmente efectuada automaticamente;

Limpeza fora do local (*Cleaning out-place – COP*) – Neste método, contrariamente ao anterior, os equipamentos são retirados do seu local de operação e levados para o local de limpeza onde serão limpos e preparados para utilização posterior;

Esterilização no local (*Sterilizing in-place – SIP*) – Tal como o nome indica, este tipo de operação envolve consiste na esterilização do material logo após CIP, pelo que é este é igualmente efectuada no lugar de instalação do equipamento;

Lavagem no local (*Washing in-place – WIP*) – Este tipo de operação consiste na lavagem do equipamento no seu lugar, não só com recurso a técnicas automáticas, mas com recurso a técnicas manuais.

No caso do material de amostragem, o tipo de limpeza efectuado é, como elucidado mais à frente, o *COP*, já que a limpeza de todo o equipamento utilizado é efectuada numa divisão especificada para esse fim. Em alguns dos componentes dos equipamentos pode se recorrer à técnica de lavagem por imersão, mas realça-se que toda a técnica de lavagem inerente a instrumentos de amostragem é manual.

#### 1.6.4. Níveis de limpeza

Em limpeza o grau de utilização determina o nível de limpeza que é necessário submeter-se a cada tipo de equipamento por forma a poder promover a eficácia da lavagem, eliminando (ou minimizado) as fontes de contaminação cruzada.

Desta forma, é necessário efectuar-se uma primeira avaliação do tipo de substância que passou pelo equipamento antes do mesmo ser lavado, tendo-se em conta qual irá ser a substância que irá passar imediatamente após a lavagem, sendo que este é um dos passos necessários para determinar qual será o nível de limpeza necessário, a par de elementos como especificidade do equipamento (se o mesmo é dedicado a uma substância ou não); da etapa de produção (se a lavagem for aplicada a equipamentos que participem activa e directamente num processo produtivo); e da natureza da substância potencialmente contaminantes [17].

Após a análise dos vários parâmetros, existem 3 níveis de limpeza/lavagem:

Nível 0 – É o nível menos crítico em lavagem. Este tipo não requer validação de limpeza após a sua implementação já que é utilizado para lavagens intra-campanhas, onde o risco de contaminação é nulo.

Nível 1 – Este nível de limpeza é aplicado quando se transita entre passos de produção de um primeiro produto para um passo produtivo inicial ou intermédio de outro produto. É também aplicado quando se transita de passos iniciais de produção de um produto para passos intermédios desse mesmo produto.

Nível 2 – É o nível de limpeza que se considera mais crítico e é aplicado quando existe mudança entre um qualquer passo e o passo final de produção de um determinado produto. É o nível onde a validação de limpeza é fundamental por ser aplicado em transições muito sensíveis e críticas

intra e inter-processos produtivos já que o produto segue, imediatamente a seguir, para o consumo final.

Para o caso dos materiais de amostragem, no presente estudo, o nível de limpeza pode ser de nível 1 ou nível 2 já que as amostragens consistem sempre, ou em partes iniciais de processo (matérias-primas) ou em partes processuais em que as amostragens são de produto final.

### 1.6.5. Cálculo de limites analíticos e formas de amostragem para validação

Em validação de limpeza, de forma a poderem existir valores de referência para os quais se poderá considerar se dada técnica de limpeza é eficaz, existe a necessidade de efectuar cálculos para encontrar esses mesmos valores. Estes limites são denominados limites de aceitação (LOA ou LA) e necessitam de ser superiores aos limites de quantificação (LOQ ou LQ) e de detecção (LOD ou LD) e são inerentes a cada método utilizado para a análise das amostras recolhidas em cada equipamento. O cálculo destes valores é efectuado com recurso a fórmulas de cálculo que foram desenvolvidas ao longo dos tempos e vão de encontro ao estado da arte de validação de limpeza nos tempos actuais.

Os valores dos limite de aceitação são assim um compromisso entre três princípios fundamentais [19]:

- Os limites devem ser apropriados à situação (i.e. devem ser valores práticos);
- Os limites devem ser determinados por via de técnicas ou métodos analíticos presentes (i.e. devem ser verificáveis);
- Os limites devem ser possíveis de cumprir (i.e. devem ser alcançáveis).

Realça-se que o compromisso que necessita de existir entre os três princípios enunciados, não poderá ser em prejuízo do grau de exigência nos limites de aceitação calculados pelo que os mesmos necessitam de resultar de “*um racional científico ajustado e coerente*” e, adicionalmente, devem ser sustentados por uma “*técnica de limpeza eficiente, adequada à remoção do resíduo até ao nível de contaminação admissível*”.

Os limites são então calculados com base em dosagens terapêuticas ou em dados toxicológicos, sendo que os dados necessários ao cálculo de cada tipo de limite estão presentes tanto em bibliografia, como em documentação interna empresarial (LD<sub>50</sub>, dosagens terapêuticas, tamanho de lotes, factores de recuperação por *swab*, etc.), podendo ser utilizados a partir dessas fontes.

Realça-se que o cálculo de limites de aceitação é efectuado de forma sucessiva e tendo em conta a homogeneidade da contaminação (i.e. a contaminação está distribuída de forma uniforme pelo equipamento).

Existem assim 3 tipos de limites sendo que um deles é o limite de aceitação ou limite analítico ( $L_3$  – em ppm de Produto) e os outros dois, são o limite residual por área de superfície ( $L_2$  – em  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) e o limite aceitável no produto subsequente ( $L_1$  ( $LSP$ ) – mg de A / kg de B).

Os cálculos para encontrar os limites dividem-se assim em dois grupos:

#### 1.6.5.1. Cálculo de limites com base em dosagens terapêuticas

Com base em dosagens terapêuticas, o cálculo de  $L_1$ , é:

$$L_1(\text{mg}/\text{kg}) = S_f \frac{\text{dose diária mínima de prod. A } (= TDD_{\text{previous A}}^{\text{lowest}})(\text{mg})}{\text{dose diária máxima de prod. B } (= TDD_{\text{next B}}^{\text{máx.}})(\text{mg}) \times 10^{-6} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}}\right)} \quad (1)$$

Em que  $S_f$  é o factor de segurança estipulado e dependente do tipo de utilização final do produto e é igual a 1/1000 para tomas orais.

A partir deste valor, e tomando o critério da escolha do pior-caso, comparando com o 10 ppm (método de *lilly*), desta comparação escolher-se-á o valor menor sendo este levado para o passo seguinte do cálculo.

Seguidamente, calcula-se  $L_2$ :

$$L_2(\mu\text{g}/\text{cm}^2) = \frac{LSP (= \min(L_1, 10 \text{ ppm})) \times BSSP(\text{kg})}{SESA (\text{cm}^2)} \times 1000 \quad (2)$$

de onde BSSP é o tamanho de *batch* do produto seguinte expresso em kg e SESA a área de equipamento utilizada partilhada (i.e. comum) entre os dois produtos expressa em  $\text{cm}^2$ .

Para cálculo de  $L_3$ , é necessário ter em conta o tipo de amostras existentes. Estas amostras são recolhidas de duas formas:

- Amostras de águas de enxaguamento (*rinse*) – Este tipo de amostras é recolhido directamente na altura da lavagem, no penúltimo passo da técnica (passo N-1, sendo N o número total de passos da lavagem) onde, por norma, acontece a passagem por água purificada. As amostras recolhidas são compostas essencialmente por água e pelos vestígios de substância e de detergente que ficaram após os passos anteriores da técnica. A técnica de amostragem normalmente consiste na recolha directa da água de lavagem,

que após passagem pelas superfícies do equipamento a ser limpo, remove o resíduo do mesmo ficando o último retido na água, sendo esta solução imediatamente recolhida à saída do equipamento em recipientes apropriados para o efeito.

- Amostras de *swab* – Este tipo de amostragem consiste na passagem de um *swab*<sup>2</sup> nos pontos críticos do equipamento. Nestes pontos – previamente estudados e assinalados – é feita a passagem do *swab* em movimentos constantes em documentação técnica específica para esse efeito. Realça-se que, quando não é possível efectuar a amostragem directamente nos equipamentos, a técnica de *swabbing* pode ser efectuada em placas com 10 cm<sup>2</sup> de área compostas pelo mesmo material que o equipamento, de forma a poder simular a aplicação da técnica *on site* sem haver o perigo de alteração de resultados aquando da transposição.

A técnica de amostragem por *swab* consiste então na passagem do utensílio em movimentos consistentes e com pressão moderada de forma a poder ser recolhido o resíduo presente na placa (ou no equipamento) na sua totalidade.

As técnicas de utilização dos *swabs* são variadas. No entanto, é relativamente consensual entre indústrias, a utilização de uma técnica em particular (Figura 1.1) executada sobre as placas.

Realça-se que é crucial a execução do processo numa só direcção; não pressionar o *swab*, de forma a esfregar, apenas arrastando-o e de ter o cuidado de remover o resíduo que fica nos cantos.

---

<sup>2</sup> O *swab* é uma zaragatoa de pontas achatadas ou redondas, composta essencialmente por material absorvente.

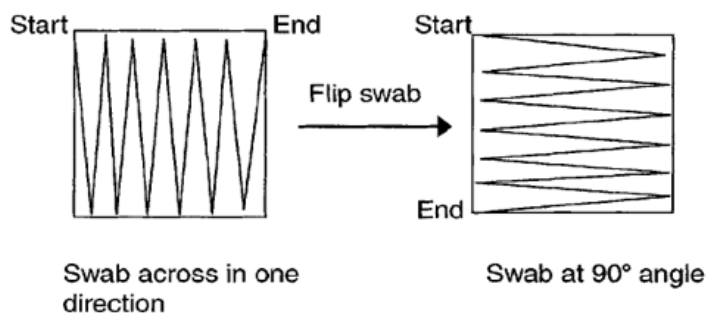


Figura 1.1 - Técnica de *swabbing* 1 [20]

Assim, após a colheita de amostras, a comparação de resultados é efectuada tendo em conta os valores de  $L_3$ . Desta forma, consoante o tipo de amostragem o limite  $L_3$  será:

- Para amostras de *rinse*:

$$L_{3,rinse}(\text{ppm ou } \mu\text{g}/\text{cm}^3) = \frac{L_2}{\text{espessura (cm)}} \quad (3)$$

Em que para a espessura é adoptado o valor de 0,5 mm ( $5 \times 10^{-2}$  cm).

- Para amostras de *swab*:

$$L_{3,swab}(\mu\text{g}/\text{cm}^3) = \frac{L_2 \times \text{área de amostragem (cm}^2\text{)}}{\text{quantidade de solvente (g)}} \times \text{tax.rec.swab} \quad (4)$$

#### 1.6.5.2. Cálculo de limites com base em dados de toxicidade

Para o cálculo de limites com base em parâmetros de toxicidade, o resultado é fornecido pela equação 5:

$$NOEL (\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{dia})) = LD_{50} (\text{mg}/\text{kg}) \times \text{factor empírico (dia}^{-1}\text{)} \quad (5)$$

Em que NOEL (*No Observable Effects Level*) é dosagem mínima que não aumenta o nível de severidade dos efeitos letais,  $LD_{50}$  é a dose letal para 50% dos elementos de uma população estudada e em que o factor empírico toma o valor de 0,0005/dia.

O cálculo do parâmetro ADI (*Acceptable Daily Intake*) é dado por:

$$ADI (\text{mg}/\text{dia}) = NOEL \times AW \times S_f \quad (6)$$

De onde, AAW é o peso médio de uma pessoa (adulto – 70 kg ou criança - 40 kg (*worst-case*)) e  $S_f$  é o factor de segurança (1/100 – formulas orais; 1/5000 – formulas intravenosas; 1/10000 – agentes de limpeza).

Finalmente, calcula-se o parâmetro MACO (*Maximum Allowable Carryover*) que é a quantidade máxima de resíduo que um equipamento pode acolher.

A fórmula de cálculo é:

$$MACO (mg) = ADI \times \frac{B (mg)}{R (mg)} \quad (7)$$

Em que B é o menor *batch* um outro qualquer produto processado no equipamento e R é a maior dosagem terapêutica diária de um outro qualquer produto processado no equipamento.

O cálculo de  $L_2$  é semelhante ao anterior para o caso das dosagens terapêuticas, e fica:

$$L_2 (mg/cm^2) = \frac{MACO (mg)}{SESA (cm^2)} \quad (8)$$

Em que SESA é a área de equipamento partilhada (i.e. em contacto) entre as duas substâncias processadas e vem em  $cm^2$ .

O cálculo de  $L_3$ , para os dois casos (*rinse* e *swab*), é igual ao elaborado para o caso das dosagens terapêuticas e parte do resultado de  $L_2$ , calculado pela equação 2.

#### 1.6.6. Validação de limpeza em equipamentos de amostragem

À semelhança do que acontece com todos os processos de validação de limpeza na validação de limpeza de equipamentos de amostragem o processo de análise necessita de ser rigoroso e bem documentado. A utilização de materiais de amostragem é limitada à sua quantidade o que faz com que um material utilizado para amostrar determinada substância possa ser utilizado, logo após a sua lavagem, para a amostragem de outra substância acarretando riscos de contaminação (seja esta cruzada ou não-cruzada) tanto entre lotes do mesmo produto como em lotes de produtos diferentes.

A amostragem pode ser tanto efectuada a matérias-primas provenientes de fornecedor como a produto acabado e assim, após a amostragem de cada tipo de produto, a lavagem do equipamento utilizado necessita de obedecer a critérios de validação que avaliem essa lavagem. Tem sido esta



uma crescente exigência por parte das auditorias efectuadas que entendem que a qualidade e a fiabilidade de um processo industrial possivelmente estão em causa pois:

- Com a falta de validação de limpeza de equipamentos de amostragem de matérias-primas não existe informação sobre a eficácia da limpeza efectuada ao equipamento, sob a possível pena de contaminação de um processo com matéria-prima não desejada resultando, possivelmente, no aumento de reacções laterais e no aumento de subprodutos que poderão seguir com o produto final;
- A qualidade de um produto final pode ficar comprometida se um processo de validação de limpeza de equipamento de amostragem de produto-final não é elaborado, pois os resíduos de lavagem do material de amostragem podem estar a contaminar o lote acabado de amostrar.

Apesar da rigorosidade emergente neste tema, a documentação existente sobre o tema de validação de equipamentos de amostragem é excessivamente escassa pelo ser necessário a existência de um estudo que elucide as exigências dos auditores face à lavagem destes materiais.

As dificuldades podem surgir logo antes da recolha de amostras, no cálculo de limites onde as fórmulas a aplicar não estão ainda adaptadas para equipamentos com o calibre dos equipamentos de amostragem. Outra das dificuldades pode se prender com o ajuste das recolhas de amostras já que o material constituinte dos equipamentos de amostragem pode não possuir similar em termos de placas para a execução das extracções de resíduo com recurso a *swab*, e assim os estudos necessitam de ser efectuados directamente *on-site* o que pode levar à impossibilidade de utilização dos equipamentos alvo, o que por vezes é impraticável em indústria devido à limitação de existência na empresa destes equipamentos e na sua frequente utilização.

#### **1.6.7. Inspeção visual**

De entre os critérios de validação de uma determinada técnica de limpeza de equipamentos, a inspeção visual constitui o critério de avaliação mais directo que existe. Este consiste na observação directa de um determinado equipamento, após a sua limpeza, de forma a poder ser identificada a presença de resíduos, de qualquer composto.

Assim, caso o critério de “visualmente limpo” não for satisfeito, a técnica de limpeza fica imediatamente não-validada.

Actualmente existem várias estratégias de abordagem para a execução de análises que possam fazer perceber se é ou não satisfeito o critério [21]:

- A simples observação visual – A simples observação visual dos equipamentos é um método bastante utilizado;
- A passagem com luvas ou panos secos – A utilização de panos secos, bem como a passagem com luvas igualmente secas, é um método barato e eficaz na procura de resíduos visivelmente notáveis;
- A utilização de azul de metileno – Consiste na formação de compostos de metileno-sulfonato que irão auxiliar na determinação de resíduos líquidos após limpeza;
- Teste de espuma – Força a formação de espumas quando tensioactivos (ex.: detergentes) permanecem nos equipamentos no pós-limpeza;
- Imagem por vídeo – Consiste na captação de imagens em tempo real, de superfícies pouco acessíveis ao olho humano;
- Condutividade – Faz valer a condutividade de substâncias após a lavagem, no sentido de localizar a presença de resíduos;

Actualmente, no âmbito do critério da inspecção visual, não existem *guidelines* específicas que transmitam quais as técnicas preferenciais a utilizar e, por esse motivo, nenhum método é o mais utilizado.

#### **1.6.8. Análise por carbono orgânico total em validação de limpeza**

O método de análise por determinação do carbono orgânico total é um processo analítico bastante utilizado em validação de limpeza. Este método permite saber, de forma não-específica, qual a quantidade de carbono orgânico presente numa determinada amostra líquida, através de processos de acidificação e oxidação. Devido à sua elevada sensibilidade de detecção, este um método analítico é bastante utilizado para a análise de águas farmacêuticas que necessitam de ter um teor em carbono orgânico geralmente baixo e bem determinado. Este método é também utilizado para a monitorização e controle da performance de unidades de processo em etapas de purificação e de distribuição [22].

Existem duas formas de análise do carbono orgânico [22]:

- O método diferencial – determina a quantidade de carbono total (TC) e a quantidade de carbono inorgânico (IC), pelo que a determinação da quantidade em carbono orgânico é calculada subtraindo a TC o valor de IC:

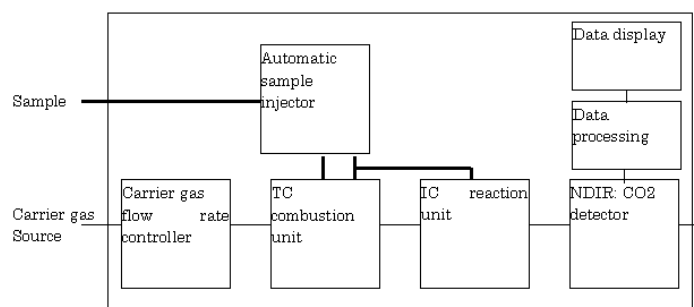
$$TOC = TC - IC \quad (9)$$

- O método directo – determina a quantidade de carbono orgânico presente na amostra através da purga de carbono inorgânico e da oxidação das moléculas de carbono orgânicas purgadas (POC) e não purgadas da amostra (NPOC). A quantidade de carbono orgânico total na amostra (TOC) é então:

$$TOC = POC + NPOC \quad (10)$$

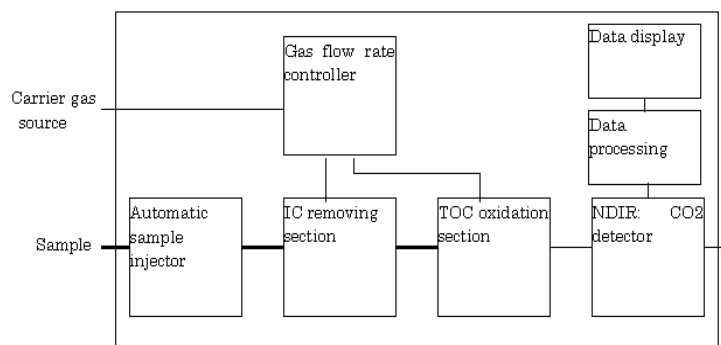
Os aparelhos de medição de medição de TOC dividem-se em três tipos:

- O método por combustão – Uma parte da amostra é injectada num tudo de combustão empacotado com partículas de um catalisador de oxidação que irá vaporizar a água da amostra e oxidar a  $CO_2$  o carbono total (carbono orgânico e inorgânico). As medidas obtidas em termos de quantidade de  $CO_2$  são analisadas e comparadas com uma curva de calibração previamente traçada. O teor em TOC pode ser determinado tanto por via directa como por via diferencial, dependente do tipo de aparelho presente.



**Figura 1.2 - Esquema de análise ao carbono orgânico total por via do método de combustão [23]**

- O método de análise por oxidação de persulfato – O carbono total (carbono orgânico e inorgânico) presente na amostra é convertido a  $CO_2$  por acidificação com ácido fosfórico e reacção com persulfato na presença de radiação ultravioleta. O  $CO_2$  segue para a câmara de *NDIR* (Analizador de gases não-dispersivos) e é medido similarmente ao método anterior [23].



**Figura 1.3 - Esquema de análise ao carbono orgânico total por via do método por oxidação de persulfato [22]**

- O método de análise por oxidação a luz ultravioleta – Neste método acontece a oxidação do carbono orgânico total de uma amostra por contacto directo com radiação ultravioleta, com o auxílio de um catalisador de persulfato ou outro catalisador de oxidação. A diferença na condutividade na água é medida e o valor traduz a quantidade de carbono orgânico total presente na amostra a ser analisada.

Antes da análise de qualquer amostra, e independentemente do tipo de método de TOC utilizado, é necessário efectuar a calibração do método que irá, além de preparar o método para a sua utilização, testar a eficiência de resposta do mesmo. A esta operação pode acompanhar o teste da repetibilidade que irá garantir que os resultados apresentados não sejam muito díspares aquando da realização de várias análises. A técnica de execução destes testes encontra-se presente nas instruções técnicas, pelo que as equações para o cálculo da eficiência de resposta do método é [23]:

$$\text{Eficiência da Resposta, \%} = \frac{r_{ss} - r_w}{r_s - r_w} \times 100 \quad (11)$$

Em que  $r_w$  é o valor de TOC da água de controlo,  $r_s$  é o valor de TOC da solução de padrão e  $r_{ss}$  é o valor de TOC da solução de teste à aplicabilidade do método. O valor que resulta da aplicação da fórmula vem em percentagem (%). Um sistema diz-se eficiente se o valor calculado pela fórmula se encontra entre os 85% e 115%.

Em validação da limpeza a análise de *TOC* pode ser implementada tanto em amostras de *swab* (se existir instrumentação para o efeito), como a águas de lavagem. Os *swabs* são colocados em *kits* de validação de limpeza de *TOC* e são colocados nos analisadores. É crucial a utilização de *swabs* com um teor baixo em carbono total de forma a não existir interferências com as leituras das amostras.

No caso das águas de lavagem (*rinse*) as amostras necessitam de ser recolhidas longe de ambientes que possuam substâncias com aromas muito fortes devido à elevada sensibilidade do método analítico.

De forma a ser possível traduzir os critérios de validação (limites) calculados em termos de carbono orgânico, é essencial o cálculo da quantidade de carbono presente num determinado composto. Assim, será possível multiplicar este valor pelo limite  $L_3$ , obtendo-se o limite para TOC da determinada amostra. A equação seguinte ilustra essa aplicação [24]:

$$C (\%) = \frac{A_r^{Carbono} \times \alpha}{PM} \times 100 \quad (12)$$

$$C (\%) \times L_3 = L_3^{TOC} \quad (13)$$

Em que  $C (\%)$  é a percentagem de carbono presente numa determinada molécula,  $\alpha$  o número de átomos de carbono nessa molécula,  $PM$  o peso molecular da molécula,  $A_r^{Carbono}$  a massa atómica relativa do carbono (igual a 12).  $L_3^{TOC}$  é o limite em TOC para amostra analisada.

Uma abordagem explicativa mais detalhada acerca do funcionamento, características, factores determinantes, entre outros, pode ser consultada em bibliografia, pelo que não será apresentada neste trabalho.

#### 1.6.9. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em validação de limpeza

A cromatografia de alta pressão é outra das técnicas bastante utilizada em validação de limpeza. Esta técnica, contrariamente à última apresentada, é altamente específica para o composto a procurar/estudar sendo que faz uso das diferentes afinidades de analíticos, numa determinada amostra, para com uma coluna de retenção composta de um material adsorvente (i.e. fase estacionária) e para com a fase móvel. Os resultados são apresentados sob a forma de um cromatograma [25].

O método analítico consiste assim numa fase móvel que circula continuamente no interior de um sistema, pelo que esta será a solução que irá arrastar os analitos que se irão separar consoante a

sua afinidade. Se uma substância eluir por último numa coluna, a sua afinidade para a coluna é alta. Se eluir em primeiro lugar então a substancia possui grau de afinidade para com a coluna baixo. Após a execução das análises, o cromatograma é impresso e este é apresentado sob forma de um gráfico com vários picos, consoante o tipo de espécies presente na amostra [25].

Assim, num determinado cromatograma, define-se a resolução (R) como sendo a diferença de volumes de eluição de dois componentes presentes numa determinada amostra, dividido pela média de largura da banda de cromatografia destes mesmos [25].

Assim:

$$R = \frac{V_2 - V_1}{\frac{1}{2}(W_1 + W_2)} \quad (14)$$

Em que R é uma unidade adimensional, e os valores de  $V_1$ ,  $V_2$ ,  $W_1$  e  $W_2$  podem possuir valores de volume tempo ou comprimento, tendo de ser coerentes devido à adimensionalidade de R. Este valor traduz a relação entre dois picos consecutivos num cromatograma (

Figura 1.4).

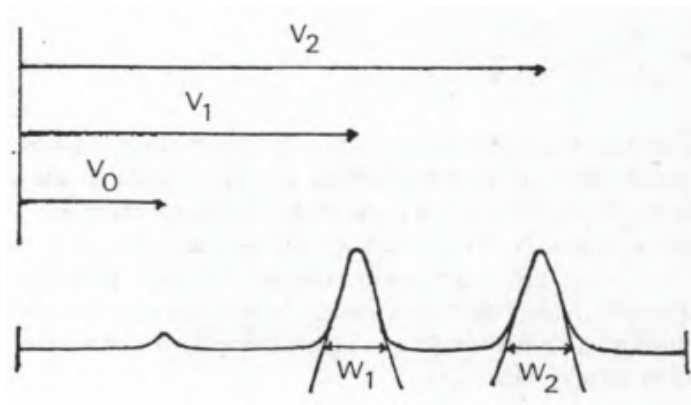


Figura 1.4 - Exemplo de um cromatograma [25]

A capacidade de retenção para um determinado traduz o termo universal para a localização de um pico ( $k'$ ) e dá informação sobre a capacidade que uma determinada coluna possui para reter esse componente da amostra [25]. Este valor é calculado como:

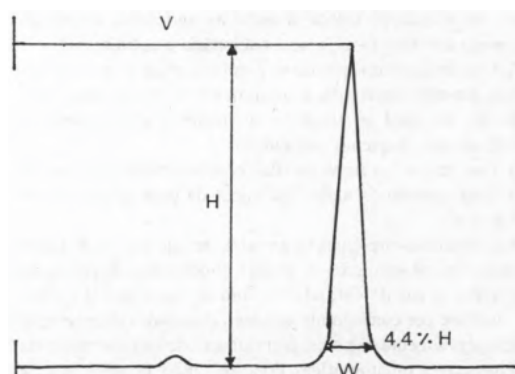
$$k' = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \quad (15)$$

De onde  $V_0$  é o volume da coluna não preenchida com enchimento, e vem em unidades de volume, e  $V_1$  é o volume de eluição de para o componente em questão [25].

A selectividade é o factor que significa a eluição de um pico de componente em relação ao outro componente sendo que este valor necessita de ser maior que 1 de forma a existir separação (tenha-se em conta a definição de capacidade de retenção) [25]. Este valor calcula-se como a relação entre as capacidades de retenção entre dois componentes da amostra, da seguinte forma [25]:

$$\alpha = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{V_2 - V_0}{V_1 - V_0} \quad (16)$$

O número de pratos teóricos, é o indicador da dispersão de um pico em relação ao seu centro (N) (Figura 1.5).



**Figura 1.5 - Traçado para o cálculo do número de pratos teóricos num cromatograma [25]**

É através deste número que é possível aferir da eficiência de um sistema cromatográfico. Se a curva de um determinado pico se assume como uma gaussiana então [25]:

$$N = 16 \frac{V^2}{W^2} \quad (17)$$

Em que V vem em unidades de tempo, volume ou comprimento e W é a largura do pico. Realça-se que este valor é dependente do solvente, coluna e fluxo entre outras variáveis que influenciarão este resultado pelo que o mesmo não é sempre o mesmo independentemente da cromatografia realizada [25].

H, é a relação entre a altura da coluna cromatográfica e o número de pratos teóricos. Este é o valor da altura de um prato teórico, vem em unidades de comprimento tal como L - comprimento da coluna - e calcula-se como:

$$H = \frac{L}{N} \quad (18)$$

Assim, se  $W=W_1=W_2$ , tem-se a equação geral para a resolução de um determinado cromatograma, que é:

$$R = \frac{1}{4} \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} N \frac{k'}{(k' + 1)}, \quad (19)$$

Da equação 19 decorre que o cálculo da resolução de um cromatograma é de crucial importância pois dá uma ideia da concretização ou não de uma separação, da selectividade da coluna para essa separação e para o estado de funcionamento da coluna de separação (por via da sua eficiência) [25].

Em validação de limpeza, a técnica de cromatografia serve essencialmente para a determinação da concentração de resíduos, seja esta em *swabs*, seja esta em amostras de *rinse*.

Cada metodologia analítica tem a sua forma de preparação específica e, em termos industriais, é normalmente fiel a farmacopeias.

A forma de preparação de amostras, a preparação de soluções móveis, colunas cromatográficas a utilizar, necessita de estar presente em documentação específica, interna a cada indústria, pelo que para cada tipo de identificação (i.e. análise) existe um método análise cromatográfica específico.

Após a obtenção de resultados, é necessário efectuar a comparação com os limites  $L_3$  calculados, sendo a partir daqui decidida a validação de determinada técnica de limpeza.

Releva-se que uma abordagem mais profunda sobre os fundamentos cromatográficos, características fundamentais e outros parâmetros pode ser consultada em literatura constante na bibliografia pelo que não será abordada neste trabalho.

#### **1.6.10. Dirty-hold time e clean-hold time**

Após a lavagem e a sua consequente validação, os equipamentos necessitam de ter prazos especificados para a sua utilização. Isto é devido ao efeito que o contacto com a atmosfera pode ter no material seja em termos acentuar a incorporação de resíduos que permaneceram após a limpeza no próprio material, a contaminação de organismos microbiológicos presentes na atmosfera que sedimentam no equipamento enquanto o mesmo não é utilizado, ou mesmo, o aumento da dificuldade de limpeza quando o equipamento, após a sua utilização, não é imediatamente limpo. É com esta base que são necessários estudos que ilustrem tanto a continuação da validade de uma limpeza após um determinado período de tempo, como a validade



do tempo em que uma limpeza seja eficiente não obstante o período de tempo entre a utilização do equipamento e a sua limpeza.

Assim, define-se o *dirty-hold time* (ou tempo de espera sujo) que é o espaço de tempo que decorre entre a utilização efectiva de um determinado material e o *clean-hold time* (ou tempo de espera limpo) que é o espaço de tempo para o qual foi demonstrado que se mantém apropriado para utilização um determinado equipamento.

Os estudos de validação efectuados possuem um carácter de importância elevada em validação de limpeza pois será com estes que se poderá aferir se é válido em termos industriais que um equipamento demore dado tempo a ser limpo sem prejuízo da eficiência da técnica da sua limpeza e se, por outro lado, se continua a ser recomendada a utilização de um equipamento após um determinado tempo depois da sua lavagem e antes de qualquer utilização.

É sabido que o *dirty-hold time* tem efeito na eficiência de uma limpeza de equipamento [26] no entanto é sempre necessário averiguar se a magnitude desse efeito é suficiente para invalidar o seu procedimento de limpeza e é esse o papel da validação deste período.

A validação normalmente ocorre com a contaminação de equipamentos sendo estes então sujos com uma quantidade conhecida de uma substância para a qual se tenha efectuado o estudo de validação de limpeza (substância pior-caso). Assim, após este passo inicial, o equipamento é deixado sujo durante um número de dias previamente determinado. Seguidamente, são efectuados os passos da técnica de limpeza, recolhendo-se todas as amostras requeridas para validação. Estas são então levadas para análise por métodos analíticos validados e calibrados (normalmente por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) e/ou por Determinação do Teor em Carbono Orgânico Total (TOC)) [26].

Quanto à validação do *clean-hold time* muito se tem questionado acerca da necessidade de validação deste espaço de tempo em termos industriais no entanto é um facto que as regulamentações que recomendam a realização desta validação existem [27].

Assim, a estratégia para elaborar uma validação de *clean-hold time* divide-se em quatro fases [27]:

- Avaliação – passa por saber quais as condições de acondicionamento dos equipamentos, identificando as possíveis fontes de contaminação por acção biológica e não-biológica;
- Análise – consiste na averiguação do tipo de acondicionamento de equipamento bem como o seu destino de utilização. É neste passo que se decide pela elaboração, ou não, da validação.

- Elaboração da validação – caso se aplique, a validação é levada a cabo estudando-se não só o estado de manutenção de limpeza em termos físicos, como também em termos biológicos efectuando-se análises de contagem microbiológica, caso seja considerável. Os equipamentos são lavados e acondicionados normalmente, ficando neste estado durante intervalos de tempo definidos. Após este intervalo de tempo, são recolhidas as amostras por *swabbing* e *rinsing* analisando-se as amostras por HPLC e por TOC. A partir da análise dos resultados decidir-se-á se determinado tempo de espera limpo é válido (a partir da comparação com os limites) ou não.
- Manutenção do estado de validação – esta fase consiste na discriminação do tempo de espera limpo, sendo que é crucial que estejam discriminados sobre o que fazer quando se ultrapassa o este período de tempo sem a utilização do equipamento. Nesta fase são também discriminadas as alterações que forem sendo feitas aos equipamentos de forma a ser efectuada uma nova validação consoante o impacto dessas alterações.

## 1.7. Plano Mestre de Validação

Após a realização dos estudos de validação em industria, existe o requisito de constituir o Plano Mestre de Validação (*Validation Master Plan - VMP*). Este documento é uma síntese de todos os processos de validação incluindo a sua estrutura de organização, a planificação e todo o conteúdo inerente [28]. É igualmente neste documento que estarão discriminados todos os equipamentos alvos de validação, bem como o planeamento das acções a tomar e as análises a efectuar.

O *VMP* necessita de discriminar toda a filosofia de validação da empresa, bem como as intenções e as abordagens que a indústria utilizou para levar a cabo o processo de validação.

O documento compreende igualmente [29]:

- Validações Prospectivas – Validações de procedimentos e equipamentos novos ou renovados que seguem um padrão de testes previamente planificados e documentados que atestem que os procedimentos vão de encontro às exigências;
- Validações Retrospectivas – Validações de procedimentos e equipamentos em execução que se baseiam em registos históricos e documentados que aferem que esses equipamentos cumprem as exigências regulamentadas;
- Validações Concorrentes – Validações de procedimentos e equipamentos que são efectuadas ao mesmo tempo que decorre um determinado processo de produção;

- Revalidações – Reavaliação de técnicas que é efectuado num período definido e que são igualmente efectuados sempre que existam alterações nos equipamentos e procedimentos.

## 1.8. Descrição do presente estudo

Este trabalho tem como o objectivo a validação do procedimento de limpeza de equipamentos de amostragem na Cipan. Estes materiais de auxílio existem em duas secções distintas da fábrica:

- Secção de Armazenamento de Matérias-Primas – Secção onde se recebe as matérias-primas e se efectua a amostragem das mesmas;
- Secção das TNE (Transformações não-estéreis) – Secção de onde saem os produtos prontos a seguirem para embalamento e expedição. É nesta secção que se efectua as amostragens dos API's produzidos na fábrica;

Numa primeira fase serão listados todos os equipamentos de amostragem existentes. Em seguida, a análise pormenorizada de cada um irá permitir calcular as áreas, superfícies de contacto, bem como definir as superfícies críticas que irão ser submetidas a *swabbing*. Será elaborada uma análise de risco adaptada aos casos de estudo a efectuar, que permitirá perceber qual o pior caso em limpeza.

A informação sobre o tamanho dos lotes e o cálculo estimado de dosagens máximas irá permitir calcular os limites de aceitação por toxicidade. Com os valores de doses terapêuticas será possível calcular os limites de aceitação correspondentes.

Proceder-se-á ao estudo do comportamento do detergente utilizado (JOEL ®) em água de forma a saber qual o limite de aceitação para o mesmo. As análises inerentes a este estudo serão efectuadas por TOC.

Os equipamentos serão divididos em dois casos:

- Equipamentos de amostragem de substâncias sólidas (matérias-primas sólidas e API's) – As superfícies críticas serão alvo da recolha de amostras por *swab* após a lavagem e as análises serão efectuadas pelo departamento de controlo de qualidade da empresa por via de HPLC;

- Equipamentos de amostragem de substâncias líquidas (matérias-primas líquidas) – Estes equipamentos serão lavados de acordo com a técnica e a recolhas de amostras por *rinse* é efectuada no passo N-1 de cada limpeza. As análises seguem para análise por TOC.

Em seguida à recepção de resultados, o tratamento dos mesmos consistirá na comparação com os limites de aceitação, sendo que a decisão sobre a validação ou não da técnica para cada tipo de equipamento irá depender dos critérios de validação utilizados.

## **2. Metodologias, análises e procedimentos**

---



## 2.1. Equipamentos de Amostragem

De forma a iniciar o trabalho de validação de equipamentos de amostragem na Cipan, optou-se por proceder à catalogação dos equipamentos de amostragem. A esta análise esteve inerente o cálculo de áreas das superfícies em contacto com os produtos de amostragem, tendo para isso sido necessário as medições de todas as superfícies de cada equipamento.

Na Tabela 2-1 estão patentes as medições efectuadas bem como as áreas partilhadas correspondentes (SESA) a cada equipamento em cm<sup>2</sup>. Releva-se que as mesmas tiveram uma majoração de 15% de forma a salvaguardar as aproximações e erros de medição que possam ter ocorrido.

**Tabela 2-1 - Equipamentos de amostragem e respectivas SESA**

<b>Equipamento de amostragem</b>	<b>Material de fabrico</b>	<b>SESA (cm<sup>2</sup>)</b>	<b>Secção fabril</b>
Pipetas de maior porte	Polímero	1680,56	Armazenamento M.P.
Pipetas de menor porte	Polímero	1036,91	Armazenamento M.P.
Pipetas de vidro com duas câmaras	Vidro	1530,4	Armazenamento M.P.
Pipetas de vidro com uma câmara	Vidro	1310,33	Armazenamento M.P.
Copo amostrador I	Polímero	751,03	Armazenamento M.P.
Copo amostrador II	Polímero	790,4	Armazenamento M.P.
Copo amostrador III	Metal	1948,48	Armazenamento M.P.
Espátula de menor porte	Metal	22,36	Armazenamento M.P.
Espátula de maior porte	Metal	154,85	Armazenamento M.P.
Colher de amostragem de maior porte	Polímero	1034,61	Armazenamento M.P.
Colher de amostragem de menor porte	Polímero	366,73	Armazenamento M.P.
Colher auxiliar	Metal	565,72	Armazenamento M.P.
Amostrador básico de menor porte	Metal	849,87	Armazenamento M.P.
Amostrador básico de maior porte	Metal	1357,06	Armazenamento M.P.
Amostrador de 5 câmaras	Metal	2847,59	Armazenamento M.P.
Amostrador de 2 câmaras	Metal	366,52	TNE
Amostrador de 1 câmara	Metal	1490,54	TNE

Segue-se então uma breve descrição dos equipamentos de amostragem de forma a poder ser dada uma noção do funcionamento dos mesmos.

- Pipetas de maior porte

Estes instrumentos são compostos por polímero acrílico e são utilizados para a amostragem de substâncias líquidas em barricas, ou tanques, com profundidade elevada.

O equipamento é constituído por duas partes maiores de encaixe entre si (Figura 2.1 e Figura 2.2), pelo mecanismo de recolha (aqui vulgarmente denominado por “botão”), e pela extremidade pontiaguda. No procedimento de lavagem deste tipo de equipamentos é necessário a desmontagem dos mesmos.

A sua utilização consiste na introdução da pipeta dentro da barrica (ou outro contentor de matéria líquida, pressionando em seguida o botão da pipeta. Após a entrada do líquido a amostrar para dentro da pipeta, retira-se a mesma depositando num recipiente o líquido retirado da barrica que seguirá para o Departamento de Controlo de Qualidade. A pipeta segue então para lavagem imediatamente após a sua utilização.



**Figura 2.1 - Parte interior constituinte de uma pipeta de polímero acrílico**



**Figura 2.2 - Parte exterior constituinte de uma pipeta de polímero acrílico**

- Pipetas de menor porte

As pipetas de menor porte são idênticas às de maior porte e à semelhança com as ultimas, são instrumentos compostos por polímero acrílico e são utilizados para a amostragem de substâncias líquidas que se encontrem em barricas mais pequenas e com profundidades não tão altas, ainda que a sua utilização possa ser direccionada também para as outras sendo por isso mais versáteis, mas consideravelmente menores. Na Cipan, este instrumento é utilizado para a amostragem de uma só substância.





**Figura 2.3 - Pipeta de polímero acrílico**

- Pipetas de vidro com duas câmaras

Estes instrumentos são compostos por uma única peça de vidro moldada com duas câmaras que são preenchidas com o líquido a amostrar à medida que o mesmo vai subindo no interior do equipamento. As suas aplicações são as mesmas que as anteriores pipetas, no entanto, a sua utilização em âmbito fabril é diminuta já que as pipetas de polímero acrílico vieram substituir este tipo de equipamento.



**Figura 2.4 - Pipeta de vidro com duas câmaras**

- Pipetas de vidro com uma câmara

Semelhante aos anteriores, estes instrumentos são compostos por uma única peça de vidro moldada com apenas uma câmara, localizada imediatamente junto à base da mesma, que é irá ser preenchida com o líquido a amostrar à medida que o mesmo vai subindo no interior do instrumento. As aplicações são semelhantes às aplicações das pipetas do tipo anterior e a sua utilização é igualmente escassa em âmbito industrial.



**Figura 2.5 - Pipeta de vidro com uma câmara**

- Copo amostrador I

Este equipamento de amostragem é utilizado para a amostragem de ácido sulfúrico por ser o único instrumento, dos disponíveis, que possui na sua composição elementos que resistem ao forte poder de corrosão. É constituído por duas partes: uma vara e o copo que irá conter a amostra. A utilização deste equipamento consiste na introdução do copo, com o auxílio da vara, no interior do recipiente de ácido sulfúrico, retirando a amostra que é posteriormente acondicionada em recipientes que seguem para análise da amostra (ver Figuras 2.6 e 2.7)

- Copo amostrador II

Ao passo que o anterior é utilizado para a amostragem de ácido sulfúrico, este equipamento de amostragem é utilizado na amostragem de ácido clorídrico. É igualmente constituído por duas partes: uma vara de apoio e um copo para a amostragem e a utilização deste equipamento é em tudo semelhante ao anterior (Figura.2-8)



**Figura 2.6 - Copo amostrador I**



**Figura 2.7 - Vara do Copo amostrador I**



**Figura 2.8 - Copo amostrador II**

- Copo amostrador III

Este equipamento é composto por um metal suficientemente resistente para o manuseio de ácido sulfúrico e era utilizado para o efeito de amostragem desse ácido, anteriormente à existência do instrumento actualmente utilizado para este fim (copo amostrador II). O manuseio e utilização é idêntico. A constituição consiste numa peça única de metal que é semelhante ao Copo amostrador I quando o mesmo se encontra montado.



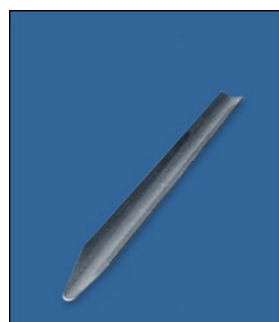
**Figura 2.9 - Copo amostrador III**

- Espátulas de maior porte, espátula de menor porte e colher auxiliar

Estes instrumentos são considerados auxiliares e servem essencialmente para ajudar no procedimento de amostragem de matérias-primas sólidas. A sua utilização é regular já que muitas vezes os equipamentos de amostragem principais não facultam a facilidade necessária para se conseguir recolher as amostras.



**Figura 2.10 - Espátula de maior porte**



**Figura 2.11 - Espátula de menor porte**



**Figura 2.12 - Colher auxiliar**

- Colher de amostragem de menor e maior porte

Estes materiais de amostragem são utilizados de maneira a auxiliar na amostragem de sólidos, à semelhança com os anteriores, sendo habitualmente utilizados em conjunto com estes, no entanto, são estes que participam, numa primeira fase, na amostragem de um determinado produto. Assim, as colheres recolhem o sólido a amostrar que pode ser pouco maleável, sendo então necessário a utilização das espátulas, ou mesmo da colher auxiliar, para recolher a substância. A sua constituição em plástico facilita a lavagem destes instrumentos e confere adaptabilidade a todos quase todos os tipos de sólidos a amostrar.



**Figura 2.13 - Colher de amostragem de menor porte**



**Figura 2.14 – Colher de amostragem de maior porte**

- Amostradores básicos de menor e maior porte

A utilização destes equipamentos é bastante comum para a realização de amostragem de produtos sólidos. É juntamente com estes e com o auxílio, tanto de colheres como das espátulas que se procede à amostragem de matérias-primas de todos os tamanhos de lote e, por esse motivo, estes são os instrumentos de amostragem de produtos sólidos mais versátil para além de ser bastante resistente.





**Figura 2.18 - Amostrador básico de maior porte**



**Figura 2.19 - Amostrador básico de menor porte**

- Amostradores de 5, 3, 2 e 1 câmara

Os equipamentos de amostragem por câmaras são os equipamentos que conferem mais versatilidade na execução de amostras de produtos em *big bags*. A amostragem é efectuada com a introdução dos equipamentos directamente nos recipientes, o que é facilitado pelas extremidades pontiagudas dos instrumentos. A presença das câmaras de amostragem permite obter a amostragem de vários pontos no interior de um *bag* o que também permite saber qual a homogeneidade do produto. Estes equipamentos são constituídos por metal, que confere resistência ao atrito causado pelo produto aquando da passagem pelo mesmo e que, ao mesmo tempo, facilita a limpeza do material após a utilização. Os amostradores de 5 e 3 câmaras encontra-se na secção de armazenamento, ao passo que os amostradores de 1 e 2 câmaras se utilizam na secção das TNE.



**Figura 2.15 - Amostrador de 5 câmaras**



**Figura 2.16 - Amostrador de 1 câmara**



**Figura 2.17 - Amostrador de 2 câmaras**

## 2.2. Análise de risco

Após a catalogação dos equipamentos de amostragem existentes, tanto na secção de armazenamento de matérias-primas como na secção das TNE, foi necessário proceder à análise de risco dos produtos existentes no armazenamento de matérias-primas. Estes são produtos sólidos e líquidos e a análise servirá, essencialmente, para a decisão sobre qual o pior caso em limpeza, ou seja, qual o produto que seria passível de ser utilizado como produto alvo de análise por possuir um risco de contaminação cruzada elevado, efectuando-se a sua amostragem, sendo depois o equipamento utilizado lavado e as correspondentes amostras necessárias colhidas.

A análise de risco consistiu em dois parâmetros: a dose letal ( $LD_{50}$ ) e a solubilidade dos produtos em água. Estes dois parâmetros são críticos no sentido em que importa saber o quão toxico poderá ser a contaminação por parte dos mesmos no equipamento em caso de não validação e também a solubilidade das matérias em águas de lavagem de forma a serem eliminados pela técnica.

Na Tabela 2-2 e na Tabela 2-4 encontram-se discriminados os métodos de avaliação dos parâmetros por via de descrições quantitativas e qualitativas (Índice de Risco – S e HS). O índice de risco atribuído a cada nível é o valor necessário para o cálculo do risco (R), como irá ser elucidado adiante. Realça-se que para o caso do presente estudo, irá ser procedida a um cálculo de um factor de risco adaptado, utilizando-se o somatório dos índices de cada parcela, ao invés de uma multiplicação como ilustrado para o exemplo do capítulo anterior.

**Tabela 2-2 - Índices de risco para a solubilidade**

Solubilidade		Descrição	Índice de Risco (1-5) (S)
>> 150 g/ml	Totalmente solúvel	Possível de remover com pressão e com uma quantidade relativamente baixa de água.	1
> 150 g/ml	Altamente solúvel	Possível de remover com pressão e com uma quantidade relativamente média de água.	2
30 g/ml < 150 g/ml	Solúvel	Possível de remover com pressão e com uma quantidade relativamente alta de água.	3
0 g/ml < 30 g/ml	Pouco solúvel	Possível de remover com pressão e com uma quantidade relativamente alta de água e com arraste.	4

**Tabela 2-3 - Índices de risco para a solubilidade (continuação)**

Solubilidade		Descrição	Índice de Risco (1-5) (S)
0 g/ml	Insolúvel	Apenas possível de remover por arraste.	5

**Tabela 2-4 - Índices de risco para a LD<sub>50</sub>**

LD <sub>50</sub>	Descrição	Índice de Risco (Ímpares 0 - 9) (HS)
LD <sub>50</sub> < 100 mg/kg	Gravidade extrema quando ingerido.	9
100 mg/kg < LD <sub>50</sub> < 300 mg/kg	Gravidade elevada quando ingerido.	7
300 mg/kg < LD <sub>50</sub> < 750 mg/kg	Grave quando ingerido.	5
750 mg/kg < LD <sub>50</sub> < 3000 mg/kg	Gravidade relativa quando ingerido.	3
3000 mg/kg < LD <sub>50</sub> < 10000 mg/kg	Gravidade baixa quando ingerido.	1
LD <sub>50</sub> > 10000 mg/kg	Gravidade extremamente baixa quando ingerido / Sem gravidade quando ingerido.	0

Como é observável, foi adoptada a utilização de números ímpares para o Índice de Risco da LD<sub>50</sub> (HS) pois assim torna-se mais fácil a divisão dos níveis de toxicidade o que também elucida a determinância deste factor para os cálculos subsequentes.

O cálculo do Risco associado a cada produto difere muito do cálculo do RPN para eventos e acontecimentos como abordado anteriormente. Isto deve-se à necessidade de adaptação deste tipo de análise para o caso de estudo já que não seria exequível em tempo útil uma análise como a demonstrada para as matérias-primas em questão devido ao seu número.

Com esse efeito, a análise adoptada consistiu no cálculo do Risco associado a cada composto (R), por via da operação de adição entre o Índice de Risco para a Solubilidade do composto (S) e o Índice de Risco para o LD<sub>50</sub> do composto (HS), como mostra a equação 20.



$$\text{Risco (R)} = \text{Risco Solubilidade (S)} + \text{Risco LD}_{50} \text{ (HS)} \quad (20)$$

Note-se que o pior-caso e o melhor-caso desta operação seriam como ilustrados na Tabela 2-5.

**Tabela 2-5 - Pior-caso e melhor-caso de risco**

<i>Risco (R) = Risco Solubilidade (S) + Risco LD<sub>50</sub> (HS)</i>	
<b>Pior-Caso (14)</b>	5 (S) + 9 (HS) = 14 (R)
<b>Melhor-Caso (1)</b>	1 (S) + 0 (HS) = 1 (R)

Assim, torna-se mais fácil dividir, por vários níveis de contaminação cruzada, os intervalos de risco calculados.

**Tabela 2-6 - Intervalos de risco e contaminação cruzada**

<b>Intervalo de Risco</b>	<b>Tipo de Risco</b>
1 – 4	Risco baixo em contaminação cruzada.
5 - 7	Algum risco em contaminação cruzada.
8 - 11	Risco significativo em contaminação cruzada.
12 - 14	Risco elevado em contaminação cruzada.

Estes níveis ditam assim o tipo de lavagem a que o equipamento utilizado para a amostragem do composto tem de ser sujeito de forma a eliminar qualquer risco de contaminação cruzada. Assim, caso o risco do produto a amostrar se encontre no intervalo em que o risco de contaminação é baixo, a técnica de lavagem do equipamento não precisa de ser executada exaustivamente. Caso o risco associado a um determinado produto de amostragem seja elevado, a técnica de lavagem necessita obrigatoriamente de ser executada com elevada rigurosidade e de ser exaustiva.

A análise das matérias-primas, como referido anteriormente, consistiu na catalogação de todos os compostos, com os respectivos Índices de Risco associados tanto à solubilidade (S) como ao LD<sub>50</sub> (HS). O cálculo do Risco (R) inerente a cada composto é calculado pela aplicação da equação 20. Os resultados podem ser consultados na Tabela 2-7. Os dados da solubilidade de cada composto podem ser consultados nas fichas MSDS da empresa pelo que não serão apresentados neste

trabalho por não serem relevantes para nenhum outro cálculo. Os dados de LD<sub>50</sub> são apresentados em tabelas mais adiante neste documento.

**Tabela 2-7 - Cálculo do risco de contaminação cruzada das matérias-primas**

<b>Matéria-prima</b>	<b>Índice de Risco de LD<sub>50</sub> (HS)</b>	<b>Índice de Risco de Solubilidade (S)</b>	<b>Risco (R)</b>
2-Isopropoxietanol	1	1	2
Acetato de Etilo	1	4	5
Acetona	3	1	4
Acetonitrilo	5	1	6
Ácido Clorídrico	5	1	6
Ácido Metanosulfônico (MSA)	5	1	6
Ácido Nítrico	7	1	8
Ácido Ortofosfórico	3	1	4
Ácido Oxálico	5	3	8
Ácido p-Clorobenzenosulfônico (CBSA)	5	2	7
Ácido p-Toluenosulfônico (PTSA)	5	2	7
Ácido Sulfúrico	3	1	4
Amónia	3	1	4
Bissulfito de Sódio	1	3	4
Carbonato de Cálcio	1	4	5
Carvão Activado (2S/3S)	1	5	6
Ciclopentil Metil Éter (CPME)	3	5	8
Cloreto de Amónio	3	2	5
Cloreto de Amónio	3	2	5
Cloreto de Cálcio	3	2	5
Cloreto de Cálcio (Hexahidratado)	3	2	5
Cloreto de Cobalto	9	3	12
Glicerina	0	4	4
Hexano	1	5	6
Hidróxido Sódio (Soda)	5	1	6
Hipoclorito de Sódio	3	1	4
Isopropanol	3	1	4
L-Lisina	1	2	3
Metanol	3	1	4
MIBK	3	4	7

**Tabela 2-8 - Cálculo do risco de contaminação cruzada das matérias-primas (continuação)**

<b>Matéria-prima</b>	<b>Índice de Risco de LD50 (HS)</b>	<b>Índice de Risco de Solubilidade (S)</b>	<b>Risco (R)</b>
Monoetilenoglicol	1	1	2
Paraformaldeído	5	4	9
Pluriol	5	5	10
Quatarmin	3	3	6
Sulfato de Amónio	3	2	5
Sulfato de Cobre	7	2	9
Sulfato de Ferro	5	2	7
Sulfato de Magnésio	3	2	5
Sulfato de Níquel	5	2	7
Sulfato de Zinco	3	2	5
Tert-Butilamina	3	1	4
Tolueno	3	4	7
Trietilamina	3	3	6
Tween 80	1	3	4
Ureia Técnica	3	1	4

Pela análise das tabelas o composto a escolher para servir de produto de amostragem no presente estudo seria o Cloreto de Cobalto uma vez que o valor de Risco (R) calculado é o mais elevado de entre todas as matérias-primas utilizadas. No entanto, não-obstante o intuito da presente análise de risco ser a escolha do pior-caso de limpeza, a mesma fica bastante condicionada não só pela disponibilidade de matérias-primas em armazém, mas também pela acessibilidade facultada às mesmas por parte da entidade fabril.

Realça-se também que nem sempre o pior-caso de contaminação cruzada se revela ser o pior-caso em limpeza em consequência das características particulares de cada composto. Assim, também devido a restrições que se prendem com a disponibilidade da empresa em facultar as matérias-primas necessárias para a elaboração do presente estudo, foi apenas possível utilizar os produtos disponibilizados.

## 2.3. Escolha dos casos de estudo

No presente caso de validação de equipamentos de amostragem, é importante abranger o maior número de casos de limpeza pois só assim se poderá ter certeza da validade da técnica utilizada para os mais variados compostos que existem.

Optou-se então por dividir as matérias-primas em sólidas e líquidas. No caso das matérias-primas sólidas, a análise será efectuada por via de recolha de amostras de *swab* e utilizado HPLC, ao

passo que, para o caso das matérias-primas líquidas, foram efectuadas análises a água de lavagem dos equipamentos, levando as amostras para a determinação de TOC. Para o primeiro caso, foi então autorizada a utilização de **Cloridrato de Tetraciclina**. A metodologia analítica para este composto de HPLC é praticada pelo controlo de qualidade de forma a controlar a produção deste composto (uma vez que este é também produzido na Cipan). Já no caso das matérias-primas líquidas, foi possível utilizar dois compostos: a **L-Lisina** e **Trietilamina**. Estas possuem carbono orgânico na estrutura, o que facilita a obtenção de resultados na análise de TOC. Os equipamentos de amostragem de produtos na secção de TNE foram também analisados e foram utilizados os produtos a serem fabricados na altura (**Limeciclina** e **Cloridrato de Tetraciclina**).

## 2.4. Cálculo de limites de aceitação

O cálculo de limites de aceitação é parte integrante de um processo de validação de limpeza pois será com estes que se poderá definir critérios de validação que servirão de comparação com os resultados obtidos.

Para o caso das matérias-primas o cálculo é efectuado com base em dados de toxicidade utilizando as equações para o efeito, mostradas anteriormente.

O primeiro passo para o cálculo dos limites de aceitação de matérias-primas, passou pela aquisição de dados do tamanho dos lotes de amostragem que cada equipamento de amostragem é utilizado. Estes dados estão sintetizados na Tabela 2-9.

**Tabela 2-9 - Tamanho dos lotes de amostragem**

<b>Equipamento de amostragem</b>	<b>Maior lote de amostragem (kg)</b>	<b>Menor lote de amostragem (kg)</b>
Pipetas de maior porte	25796	175
Pipetas de menor porte	3563	175
Pipetas de vidro com duas câmaras	25796	175
Pipetas de vidro com uma câmara	25796	175
Copo amostrador I	25180	12180
Copo amostrador II	12000	11920
Copo amostrador III	25180	12180
Espátula de menor porte	22000	1
Espátula de maior porte	22000	1
Colher de amostragem de maior porte	22000	1
Colher de amostragem de menor porte	22000	1

**Tabela 2-10 - Tamanho dos lotes de amostragem (continuação)**

<b>Equipamento de amostragem</b>	<b>Maior lote de amostragem (kg)</b>	<b>Menor lote de amostragem (kg)</b>
Colher auxiliar	22000	1
Amostrador básico de menor porte	22000	1
Amostrador básico de maior porte	22000	1
Amostrador de 5 câmaras	22000	1800
Amostrador de 3 câmaras	1800	405
Amostrador de 2 câmaras	3000	100
Amostrador de 1 câmara	3000	100

Através da observação da tabela é possível perceber que existem equipamentos de amostragem que são utilizados para tamanhos de lote iguais. Isto deve-se ao facto de que, na presente indústria, muitas vezes os equipamentos disponíveis para a execução de amostragens não são os mesmos que os utilizados para amostragens anteriores pelo que, devido à urgência de amostragem, é necessário a utilização de outros instrumentos. Isto revela igualmente que, na maioria dos casos, a utilização de equipamentos não é vinculativa, ou seja, não se cinge apenas à utilização de um equipamento para um único tamanho/tipo de lote.

No entanto, existem também equipamentos de amostragem utilizados exclusivamente para a amostragem de certos compostos. Um exemplo concreto é o caso das pipetas de menor porte, já que estas são utilizadas exclusivamente para a amostragem de Formol. Já os amostradores de 3 câmaras apenas são utilizados em lotes que tenham entre 405,00 kg e os 1800,00 kg de tamanho, independentemente do composto.

O passo seguinte é a estimativa das dosagens terapêuticas diárias dos produtos que são amostrados nos equipamentos. Neste passo foi necessário estimar os valores das dosagens diárias de todos as matérias-primas no sentido de saber quais os maiores valores.

Os valores foram estimados com base nos valores de LD<sub>50</sub> para cada composto, assumindo estes numa base de um dia. Assim os valores das dosagens diárias estimadas vêm:

$$Dose\ diária\ estimada\ (mg) = Peso\ (kg) \times LD_{50}\ (mg/kg) \quad (21)$$

O peso pode ser 40 kg ou 70 kg consoante se estime o valor tanto para uma criança ou para um adulto, respectivamente. O valor estimado para cada um dos casos, nas matérias-primas sólidas encontra-se na Tabela 2-11.

**Tabela 2-11 - Doses diárias estimadas para matérias-primas sólidas**

<b>Matéria-prima</b>	<b>LD<sub>50</sub> (mg/kg)</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - criança</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - adulto</b>
Ácido Oxálico	375	15000	26250
Bissulfito de Sódio	3200	128000	224000
Carbonato de Cálcio	6450	258000	451500
Cloreto de Cálcio (Hexahidratado)	1000	40000	70000
Cloreto de Cobalto	80	3200	5600
Cloreto de Ferro	900	36000	63000
Dextrose	29700	1188000	2079000
EDTA	1780	71200	124600
Fosfato Monopotássico	2000	80000	140000
Sulfato de Amônio	2840	113600	198800
Sulfato de Cobre	300	12000	21000
Sulfato de Ferro	319	12760	22330
Sulfato de Magnésio	3000	120000	210000
Sulfato de Níquel	300	12000	21000
Sulfato de Zinco	2150	86000	150500
Ureia Técnica	1100	44000	77000

Para o caso das matérias-primas líquidas os valores podem ser consultados na Tabela 2-12 .

**Tabela 2-12 - Doses diárias estimadas para matérias-primas líquidas**

<b>Matéria-prima</b>	<b>LD<sub>50</sub> (mg/kg)</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - criança</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - adulto</b>
2-iso-propoxy-etanol	4900	196000	343000
Acetato de Etilo	5620	224800	393400
Acetona	3000	120000	210000
Acetonitrilo	617	24680	43190
Ácido Clorídrico	700	28000	49000
MSA	415	16600	29050
Ácido Nítrico	430	17200	30100
Ácido Ortofosfórico	1260	50400	88200
Ácido Sulfúrico	2140	85600	149800
Amônia	2000	80000	140000
CPME	1000	40000	70000
Cloreto de Amônio	1440	57600	100800
Cloreto de Cálcio	1000	40000	70000
Cloreto de Paládio	2704	108160	189280
Contrapen BD/95	2000	80000	140000
Dimetilformamida	3040	121600	212800
Epiclorigrina	90	3600	6300
Etanol	6200	248000	434000
Formol	800	32000	56000

**Tabela 2-13 - Doses diárias estimadas para matérias-primas líquidas (continuação)**

<b>Matéria-prima</b>	<b>LD<sub>50</sub> (mg/kg)</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - criança</b>	<b>Dose diária estimada (mg/dia) - adulto</b>
Metanol	1187	47480	83090
Glicerina	12600	504000	882000
Hexano	3367	134680	235690
Hidróxido Sódio (Soda)	500	20000	35000
Hipoclorito de Sódio	1100	44000	77000
Isopropanol	1088	43520	76160
L-Lisina	10000	400000	700000
MIBK	2080	83200	145600
Monoetilenoglicol	4700	188000	329000
Pluriol	500	20000	35000
Quatarmin	1500	60000	105000
Cloreto de Ródio	1302	52080	91140
Tert-Butilamina	464	18560	32480
Tolueno	636	25440	44520
Trietilamina	800	32000	56000
Tween 80	38000	1520000	2660000

#### **2.4.1. Matérias-primas sólidas**

A colheita de amostras em equipamentos de amostragem de matérias-primas sólidas será com recurso a *swab* e assim, um dos parâmetros necessários para o cálculo de limites de aceitação por



dados de toxicidade é a área de superfície de *swabbing*. Este valor obtém-se através da medição dos pontos críticos do equipamento por onde será passado o *swab*.

A Tabela 2-14 contém a localização dos pontos críticos de cada equipamento e as medidas dos mesmos em (cm<sup>2</sup>). Foi assumida uma espessura de 0,05 cm para cada área de superfície de *swabbing*, quando as mesmas são superfícies lineares.

**Tabela 2-14 - Áreas de superfície de *swabbing* e pontos críticos de cada equipamento de amostragem**

Equipamento de amostragem	Pontos críticos	Área de superfície de <i>swabbing</i> (cm <sup>2</sup> )
Espátula de menor porte	Superfície de contacto com a amostra.	12,15
Espátula de maior porte	Superfície de contacto com a amostra.	1,50
Colher de amostragem de maior porte	Zona central da colher, veios centrais	26,65
Colher de amostragem de menor porte	Veios superiores, veios inferiores.	9,20
Colher auxiliar	Superfície de contacto com a amostra.	16,20
Amostrador básico de menor porte	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	7,23
Amostrador básico de maior porte	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	5,65
Amostrador de 5 câmaras	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	56,45
Amostrador de 1 câmara	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	16,26
Amostrador de 3 câmaras	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	12,19
Amostrador de 2 câmaras	Câmaras e parte do interno da parte exterior.	7,08

Utilizando os dados anteriores e aplicando as equações 5, 6 e 7, calculam-se os valores de *NOEL*, *ADI* e *MACO*, para cada composto e para cada equipamento (próxima página).

**Tabela 2-15 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas sólidas**

<b>Matéria-prima</b>	<b>LD<sub>50</sub> (mg/kg)</b>	<b>NOEL (mg/kg.dia)</b>	<b>ADI (mg/dia)</b>	<b>MACO<sup>1</sup> (mg)</b>	<b>MACO<sup>2</sup> (mg)</b>	<b>MACO<sup>3</sup> (mg)</b>
Ácido Oxálico	375,00	0,19	0,01	0,01	19,89	4,47
CBSA	500,00	0,25	0,02	0,01	26,52	5,97
PTSA	500,00	0,25	0,02	0,01	26,52	5,97
Bissulfito de Sódio	3200,00	1,60	0,11	0,09	169,70	38,18
Carbonato de Cálcio	6450,00	3,23	0,23	0,19	342,05	76,96
Carvão Activado	10000,00	5,00	0,35	0,29	530,30	119,32
Cloreto de Amónio	1410,00	0,71	0,05	0,04	74,77	16,82
Cloreto de Cálcio	1000,00	0,50	0,04	0,03	53,03	11,93
Cloreto de Cobalto	80,00	0,04	0,00	0,00	4,24	0,95
Cloreto de Ferro	900,00	0,45	0,03	0,03	47,73	10,74
Dextrose	29700,00	10,00	0,70	0,59	1060,61	238,64
DBAD	2150,00	1,08	0,08	0,06	114,02	25,65
EDTA	1780,00	0,89	0,06	0,05	94,39	21,24
Fosfato Monopotássico	2000,00	1,00	0,07	0,06	106,06	23,86
Paraformaldeído	670,00	0,34	0,02	0,02	35,53	7,99
Sulfato de Amónio	2840,00	1,42	0,10	0,08	150,61	33,89

**Tabela 2-16 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas sólidas (continuação)**

<b>Matéria-prima</b>	<b>LD50 (mg/kg)</b>	<b>NOEL (mg/kg.dia)</b>	<b>ADI (mg/dia)</b>	<b>MACO<sup>1</sup> (mg)</b>	<b>MACO<sup>2</sup> (mg)</b>	<b>MACO<sup>3</sup> (mg)</b>
Sulfato de Cobre	300,00	0,15	0,01	0,01	15,91	3,58
Sulfato de Ferro	319,00	0,16	0,01	0,01	16,92	3,81
Sulfato de Magnésio	3000,00	1,50	0,11	0,09	159,09	35,80
Sulfato de Níquel	300,00	0,15	0,01	0,01	15,91	3,58
Sulfato de Zinco	2150,00	1,08	0,08	0,06	114,02	25,65
Ureia Técnica	1100,00	0,55	0,04	0,03	58,33	13,13

<sup>1</sup> A coluna destina-se aos resultados de MACO para todos equipamentos excepto os amostradores de 5 e 3 câmaras;

<sup>2</sup> A coluna destina-se aos resultados de MACO para os amostradores de 5 câmaras;

<sup>3</sup> A coluna destina-se aos resultados de MACO para os amostradores de 3 câmaras.

Os valores de  $L_2$  são calculados com a utilização da equação 8 e com os valores de *SESA* da Tabela 2-1. Estes valores são apresentados no Anexo 1, na Tabela 8-1..

Para o cálculo de  $L_3$ , foi necessário ter em conta o valor de solvente a utilizar ( $4\text{ cm}^3$ ) bem como o valor da taxa de recuperação de *swab* para cada composto. Não existem estudos de recuperação para as matérias-primas da Cipan, pelo que foi necessário supor uma taxa de recuperação de forma a poder ser possível calcular os limites nas amostras analisadas ( $L_3$ ).

Assim, supondo uma taxa de recuperação de 80%, os valores calculados para  $L_3$  encontram-se na Tabela 2-17 (página seguinte).

Tabela 2-17 - Valores de  $L_3$  para as matérias-primas sólidas

Matéria-prima	Espátula de menor porte (ppm)	Espátula de maior porte (ppm)	Colher de maior porte (ppm)	Colher de menor porte (ppm)	Amostrador básico de menor porte (ppm)	Amostrador básico de maior porte (ppm)	Amostrador de 5 câmaras (ppm)	Amostrador de 3 câmaras (ppm)
Ácido Oxálico	1,20E-03	2,14E-05	5,69E-05	5,54E-05	1,88E-05	9,21E-06	7,88E-02	1,46E-02
Bissulfito Sódio	1,02E-02	1,83E-04	4,86E-04	4,73E-04	1,60E-04	7,86E-05	6,73E-01	1,25E-01
Carbonato de Cálcio	2,07E-02	3,68E-04	9,79E-04	9,53E-04	3,23E-04	1,58E-04	1,36E+00	2,52E-01
Carvão Ativado	3,20E-02	5,71E-04	1,52E-03	1,48E-03	5,01E-04	2,46E-04	2,10E+00	3,91E-01
CBSA	1,60E-03	2,85E-05	7,59E-05	7,39E-05	2,50E-05	1,23E-05	1,05E-01	1,95E-02
Cloreto de Cobalto	2,56E-04	4,57E-06	1,21E-05	1,18E-05	4,01E-06	1,96E-06	1,68E-02	3,12E-03
Cloreto de Amônio	4,52E-03	8,05E-05	2,14E-04	2,08E-04	7,06E-05	3,46E-05	2,96E-01	5,51E-02
Cloreto de Cálcio	3,20E-03	5,71E-05	1,52E-04	1,48E-04	5,01E-05	2,46E-05	2,10E-01	3,91E-02
Cloreto Ferro	2,88E-03	5,14E-05	1,37E-04	1,33E-04	4,51E-05	2,21E-05	1,89E-01	3,51E-02
DBAD	6,88E-03	1,23E-04	3,26E-04	3,18E-04	1,08E-04	5,28E-05	4,52E-01	8,40E-02
Dextrose	6,40E-02	1,14E-03	3,04E-03	2,96E-03	1,00E-03	4,91E-04	4,21E+00	7,81E-01
EDTA	5,70E-03	1,02E-04	2,70E-04	2,63E-04	8,92E-05	4,37E-05	3,74E-01	6,95E-02
Fosfato Monopotássico	6,40E-03	1,14E-04	3,04E-04	2,96E-04	1,00E-04	4,91E-05	4,21E-01	7,81E-02
Paraformaldeído	2,15E-03	3,82E-05	1,02E-04	9,90E-05	3,36E-05	1,65E-05	1,41E-01	2,62E-02
PTSA	1,60E-03	2,85E-05	7,59E-05	7,39E-05	2,50E-05	1,23E-05	1,05E-01	1,95E-02
Sulfato de Cobre	9,61E-04	1,71E-05	4,55E-05	4,43E-05	1,50E-05	7,37E-06	6,31E-02	1,17E-02

**Tabela 2-18 - Valores de L<sub>3</sub> para as matérias-primas sólidas (continuação)**

<b>Matéria-prima</b>	<b>Espátula de menor porte (ppm)</b>	<b>Espátula de maior porte (ppm)</b>	<b>Colher de maior porte (ppm)</b>	<b>Colher de menor porte (ppm)</b>	<b>Amostrador básico de menor porte (ppm)</b>	<b>Amostrador básico de maior porte (ppm)</b>	<b>Amostrador de 5 câmaras (ppm)</b>	<b>Amostrador de 3 câmaras (ppm)</b>
Sulfato de Amônio	9,09E-03	1,62E-04	4,31E-04	4,20E-04	1,42E-04	6,97E-05	5,97E-01	1,11E-01
Sulfato Ferro	1,02E-03	1,82E-05	4,84E-05	4,72E-05	1,60E-05	7,83E-06	6,71E-02	1,25E-02
Sulfato Magnésio	9,61E-03	1,71E-04	4,55E-04	4,43E-04	1,50E-04	7,37E-05	6,31E-01	1,17E-01
Sulfato Níquel	9,61E-04	1,71E-05	4,55E-05	4,43E-05	1,50E-05	7,37E-06	6,31E-02	1,17E-02
Sulfato Zinco	6,88E-03	1,23E-04	3,26E-04	3,18E-04	1,08E-04	5,28E-05	4,52E-01	8,40E-02
Ureia técnica	3,52E-03	6,28E-05	1,67E-04	1,63E-04	5,51E-05	2,70E-05	2,31E-01	4,30E-02

Note-se que não estão presentes os API's que são utilizados como matérias-primas na Cipan, já que para o cálculo dos limites de aceitação destas a abordagem é diferente. Foi então necessário assumir como tamanho de lotes, o mesmo tamanho dos lotes produzidos na Cipan (que não difere muito em relação aos lotes de API's utilizados como matéria-prima) (Tabela 2-20).

**Tabela 2-19 - Dados para o cálculo de limites de API's utilizados como matéria-prima**

Princípio Activo	Dose Diária Mínima (mg)	Dose Diária Máxima (g)	Produção Unitária (kg)
Cloridrato de Tetraciclina	625000	1,25	1720
Cloridrato de Demeclociclina	150000	0,3	850
Cloridrato de Oxitetraciclina	625000	1,25	1800

Recorrendo às equações 1, 2 e 4, chega-se aos limites na amostra analisada (*swab*)<sup>3</sup>. Seguidamente apresentam-se os valores de  $L_3$ . Os valores de  $L_1$  e de  $L_2$  para cada instrumento, encontram-se apresentados no Anexo 1, nas Tabelas 8-6 até 8-12.

**Tabela 2-20 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 3 câmaras**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador 3 Câmaras) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		61,22	61,22
	Cloridrato de Demeclociclina	29,45		29,45
	Cloridrato de Oxitetraciclina	58,91	58,91	

<sup>3</sup> As taxas de recuperação por *swab* estão presentes em documentação interna da empresa e são: 85% para o Cloridrato de Demeclociclina; 87% para o Cloridrato de Tetraciclina; e a admissão do valor de 80% para a Cloridrato de Oxitetraciclina.

**Tabela 2-21 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 5 câmaras**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador 5 Câmaras) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		74,16	74,16
	Cloridrato de Demeclociclina	35,68		35,68
	Cloridrato de Oxitetraciclina	71,37	71,37	

**Tabela 2-22 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de maior porte**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador básico de maior porte) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		15,59	15,59
	Cloridrato de Demeclociclina	7,50		7,50
	Cloridrato de Oxitetraciclina	15,00	15,00	

**Tabela 2-23 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de menor porte**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador básico de menor porte) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		31,81	31,81
	Cloridrato de Demeclociclina	15,30		15,30
	Cloridrato de Oxitetraciclina	30,61	30,61	

Tabela 2-24 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de menor porte.

$L_3$ (Swabbing - Espátula de menor porte) (ppm)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		2033,15	2033,15
	Cloridrato de Demeclociclina	978,19		978,19
	Cloridrato de Oxitetraciclina	1956,52	1956,52	

Tabela 2-25 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de maior porte.

$L_3$ (Swabbing - Espátula de maior porte) (ppm)				
		Cloridrato de Tetraciclina		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		36,24	36,24
	Cloridrato de Demeclociclina	17,44		17,44
	Cloridrato de Oxitetraciclina	34,87	34,87	

Tabela 2-26 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em colheres de maior porte

$L_3$ (Swabbing - Colher de maior porte) (ppm)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		96,36	96,36
	Cloridrato de Demeclociclina	46,36		46,36
	Cloridrato de Oxitetraciclina	92,73	92,73	



Tabela 2-27 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's utilizados como matéria-prima em colheres de menor porte

$L_3$ (Swabbing - Colher de menor porte) (ppm)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		33,27	33,27
	Cloridrato de Demeclociclina	16,00		16,00
	Cloridrato de Oxitetraciclina	32,01	32,01	

#### 2.4.2. Matérias-primas líquidas

Relativamente ao caso das matérias-primas líquidas, o cálculo através de dados de toxicidade é semelhante ao anterior. Recorrendo às equações 5, 6, 7 e 8, e juntamente com os valores de SESA de cada equipamento, obtêm-se os valores de NOEL, ADI, MACO (Tabela 2-28 na página seguinte) e de  $L_2$  (no Anexo1, Tabela 8-3).

Tabela 2-28 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas

Matéria-prima	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	NOEL (mg/kg.dia)	ADI (mg/dia)	MACO (mg)
2-Isopropoxietanol	4900,00	2,45	0,17	90,26
Acetato de Etilo	5620,00	2,81	0,20	103,53
Acetona	3000,00	1,50	0,11	55,26
Acetonitrilo	617,00	0,31	0,02	11,37
Ácido Clorídrico	700,00	0,35	0,02	12,89
MSA	415,00	0,21	0,01	7,64
Ácido Nítrico	430,00	0,22	0,02	7,92

Tabela 2-29 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas (continuação)

Matéria-prima	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	NOEL (mg/kg.dia)	ADI (mg/dia)	MACO (mg)
Ácido Ortofosfórico	1260,00	0,63	0,04	23,21
Ácido Sulfúrico	2140,00	1,07	0,07	39,42
Amónia	2000,00	1,00	0,07	36,84
Cloreto de Amónio	1440,00	0,72	0,05	26,53
Cloreto de Cálcio	1000,00	0,50	0,04	18,42
Cloreto de Paládio	2704,00	1,35	0,09	49,81
Cloreto de Ródio	1302,00	0,65	0,05	23,98
Contrapen BD/95	2000,00	1,00	0,07	36,84
CPME	1000,00	0,50	0,04	18,42
Dimetilformamida	3040,00	1,52	0,11	56,00
Epicloridrina	90,00	0,05	0,00	1,66
Etanol	6200,00	3,10	0,22	114,21
Formol	800,00	0,40	0,03	14,74
Glicerina	12600,00	6,30	0,44	232,11
Hexano	3367,00	1,68	0,12	62,02
Hidróxido de Sódio (Soda)	500,00	0,25	0,02	9,21
Hipoclorito de Sódio	1100,00	0,55	0,04	20,26
Isopropanol	1088,00	0,54	0,04	20,04

Tabela 2-30 - Valores de NOEL, ADI, e MACO para as matérias-primas líquidas (continuação)

Matéria-prima	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	NOEL (mg/kg.dia)	ADI (mg/dia)	MACO (mg)
L-Lisina	10000,00	5,00	0,35	184,21
Metanol	1187,00	0,59	0,04	21,87
MIBK	2080,00	1,04	0,07	38,32
Monoetilenoglicol	4700,00	2,35	0,16	86,58
Pluriol	500,00	0,25	0,02	9,21
Quatarmin	1500,00	0,75	0,05	27,63
Tert-Butilamina	464,00	0,23	0,02	8,55
Tolueno	636,00	0,32	0,02	11,72
Trietilamina	800,00	0,40	0,03	14,74
Tween 80	38000,00	10,00	0,70	368,42

Utilizando os valores de L<sub>2</sub>, o cálculo dos valores de L<sub>3</sub>, neste caso para *rinse*, é efectuado supondo um filme de 0,05 cm de espessura. Os resultados para L<sub>3</sub> são os que se seguem na Tabela 2-31 (página seguinte).

Tabela 2-31 - Valores de  $L_3$  para as matérias-primas líquidas

Matéria-prima	Pipeta grande (ppm)	Pipeta pequena (ppm)	Pipetas de vidro com duas câmaras (ppm)	Pipetas de vidro com uma câmara (ppm)	Copo amostrador I (ppm)	Copo amostrador II (ppm)
2-Isopropoxietanol	1,074		1,180	1,378		
Acetato de Etilo	1,232		1,353	1,580		
Acetona	0,658		0,722	0,844		
Acetonitrilo	0,135		0,149	0,173		
Ácido Clorídrico						0,326
Ácido Nítrico	0,094		0,104	0,121		
Ácido Ortofosfórico	0,276		0,303	0,354		
Ácido Sulfúrico					1,050	
Amônia	0,438		0,481	0,562		
Cloreto de Amônio	0,316		0,347	0,405		
Cloreto de Cálcio	0,219		0,241	0,281		
Cloreto de Paládio	0,593		0,651	0,760		
Cloreto de Ródio	0,285		0,313	0,366		
Contrapen BD/95	0,438		0,481	0,562		
CPME	0,219		0,241	0,281		
Dimetilformamida	0,666		0,732	0,855		
Epicloridrina	0,020		0,022	0,025		
Etanol	1,359		1,493	1,743		
Formol		0,284				
Glicerina	2,762		3,033	3,543		
Hexano	0,738		0,811	0,947		
Hidróxido Sódio	0,110		0,120	0,141		
Hipoclorito de Sódio	0,241		0,265	0,309		
Isopropanol	0,239		0,262	0,306		
L-Lisina	2,192		2,407	2,812		
Metanol	0,260		0,286	0,334		
MIBK	0,456		0,501	0,585		

**Tabela 2-32 - Valores de L<sub>3</sub> para as matérias-primas líquidas (continuação)**

<b>Matéria-prima</b>	<b>Pipeta grande (ppm)</b>	<b>Pipeta pequena (ppm)</b>	<b>Pipetas de vidro com duas câmaras (ppm)</b>	<b>Pipetas de vidro com uma câmara (ppm)</b>	<b>Copo amostrador I (ppm)</b>	<b>Copo amostrador II (ppm)</b>
Monoetilenoglicol	1,030		1,131	1,321		
MSA	0,091		0,100	0,117		
Pluriol	0,110		0,120	0,141		
Quatarmin	0,329		0,361	0,422		
Tert-Butilamina	0,102		0,112	0,130		
Tolueno	0,139		0,153	0,179		
Trietilamina	0,175		0,193	0,225		
Tween 80	4,385		4,815	5,623		

Como é possível constatar, existem valores que não se encontram calculados na tabela, isto deve-se ao facto de que existem equipamentos de amostragem que não são utilizados para a amostragem das matérias-primas que não possuem os limites calculados para esses equipamentos.

### 2.4.3. Princípios-ativos nas TNE

O cálculo de limites de aceitação dos API's produzidos na Cipan, tem necessariamente de seguir a forma de cálculo por dosagens terapêuticas. Estes dados são semelhantes aos utilizados para o cálculo de limites de aceitação para os API's que são utilizados como matérias-primas, efectuados anteriormente (Tabela 2-33).

**Tabela 2-33 - Dados para o cálculo de limites de API's nas TNE**

<b>Princípio-activo</b>	<b>Dose Diária Mínima (mg)</b>	<b>Dose Diária Máxima (g)</b>	<b>Produção Unitária (kg)</b>
Cloridrato de Tetraciclina	625000	1,25	1720
Oxitetraciclina Cálcica	625000	1,25	95
Limeciclina	814000	1,628	100

Com o recurso à equação 1, alcança-se o resultado de  $L_1$ , conforme é apresentado no Anexo 1, Tabela 8-14.

Para o cálculo de  $L_2$ , utiliza-se o menor valor entre  $L_1$  e 10 ppm (critério de *lilly*) pelo que todos os valores utilizados para o cálculo de  $L_2$ , são transformados em 10 ppm.

Assim, utilizando os valores referidos para o cálculo de  $L_2$ , calcula-se o limite. Os valores encontram-se no Anexo 1, Tabelas 8-16 e 8-17.

Os valores calculados para  $L_3$  resultam da aplicação da equação 4, tendo em conta os valores da taxa de recuperação de *swab*, para os vários compostos, e presentes em documentação interna<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> 88% para a Limeciclina; 87% para o Cloridrato de Tetraciclina; e a admissão do valor de 80% para a Oxitetraciclina Cálcica.

**Tabela 2-34 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's nas TNE em amostradores de 1 câmara**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador 1 câmara) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		40,80	40,80
	Oxitetraciclina Cálcica	2,07		2,07
	Limeciclina	2,41	2,41	

**Tabela 2-35 - Cálculo de valores de  $L_3$  para API's nas TNE em amostradores de 2 câmaras**

<b><math>L_3</math> (Swabbing - Amostrador 2 câmaras) (ppm)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		72,28	72,28
	Oxitetraciclina Cálcica	3,67		3,67
	Limeciclina	4,26	4,26	

## 2.5. Procedimento de amostragem

O procedimento de amostragem na Cipan segue a documentação interna intitulada “*Técnica de Amostragem*”[30] pelo que este procedimento não será descrito em detalhe por se tratar de informação confidencial.

Os passos para a recolha de amostras são dependentes do tipo de matéria a amostrar. Existem instruções igualmente específicas para a amostragem tanto de autotanques, como em bidons, reservatórios, entre outros.

A documentação aconselha a execução da técnica de amostragem de forma a evitar acções que providenciem a contaminação cruzada, dando instruções para que tal seja evitado.

Estão também presentes instruções para a execução de amostragens de produtos perigosos, indicando os locais apropriados e equipamento necessário para a concretização da operação com segurança.

## 2.6. Procedimento de lavagem dos equipamentos de amostragem

À semelhança do que acontece com o procedimento anterior, o procedimento de lavagem do equipamento de amostragem é constante em instrução técnica interna da Cipan denominada “*Lavagem do Equipamento de Amostragem*”[31] no entanto, pelo facto de ser importante a descrição deste processo devido ao teor deste estudo, descrever-se-á a mesma.

A sequência geral divide-se em dois procedimentos:

- *Sequência Regra Geral* – Envolve a passagem por água da rede; utilização de água com detergente; passagem por água corrente e passagem por água purificada (duas vezes). Após estes passos a secagem do material é efectuada ao ar livre.
- *Sequência Material das Gorduras* – Envolve a passagem por água quente corrente; utilização de água com detergente; passagem por água corrente e passagem por água purificada (duas vezes). Igualmente à anterior sequência, o material é seco ao ar livre.

## 2.7. Recolha de amostras de *swab* e *rinse*

As amostras de *swab* e *rinse* para elaboração do presente estudo são recolhidas após a secagem do material (caso das amostras por *swabbing* em equipamento de amostragem de sólidos) e no passo de passagem por água purificada (caso das amostras por *rinsing* em equipamento de amostragem de líquidos).

No presente caso de estudo, as amostras foram colhidas da seguinte forma:

- **Matérias-primas sólidas:** As amostras foram recolhidas após a amostragem de **Cloridrato de Tetraciclina**, após a lavagem e secagem dos equipamentos (**amostradores básicos de menor porte e maior porte, colheres de menor porte, espátulas de menor porte**) com o auxílio de *swabs* da *Texwipe* TX714A ®.

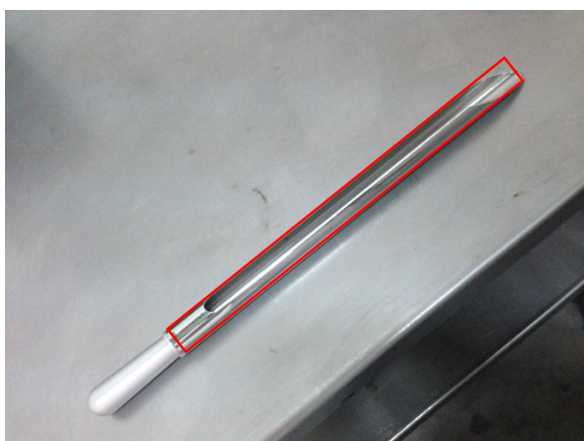
Foram recolhidas 5 amostras, sendo que as colheres de menor porte e as espátulas de menor porte apenas foram necessárias de utilizar em um evento de amostragem. O procedimento foi executado por técnicos especializados para o efeito.



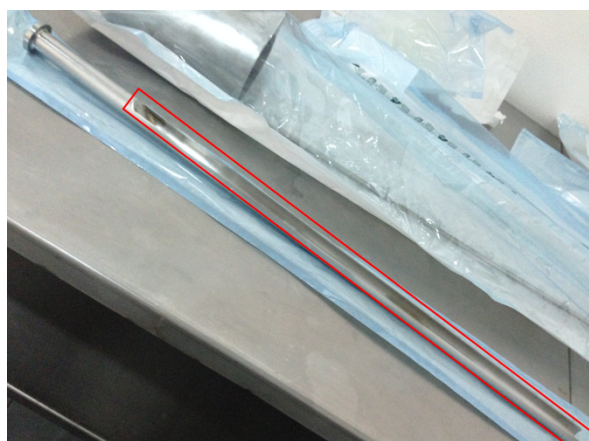


**Figura 2.20 - Swabs Texwipe TX714A®**

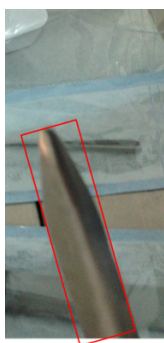
O *swab* foi passado nas zonas críticas dos equipamentos ilustradas nas figuras seguintes:



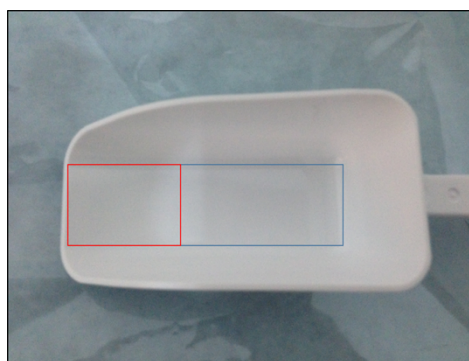
**Figura 2.21 – Pontos críticos do amostrador básico de menor porte**



**Figura 2.22 - Pontos críticos do amostrador básico de maior porte**



**Figura 2.23 – Pontos críticos da espátula de menor porte**



**Figura 2.24 - Pontos críticos da colher de menor porte**

A técnica foi efectuada, conforme ilustram as imagens seguintes, nos equipamentos efectuando movimentos de raspagem, utilizando cada lado do *swab*, em cada superfície:



Figura 2.25 – *Swabbing* do amostrador de menor porte



Figura 2.26 - *Swabbing* do amostrador de maior porte

As amostras foram depois depositadas em frascos de amostragem e enviados para o Controlo de Qualidade para a pesquisa de vestígios de **Cloridrato de Tetraciclina** em HPLC.

- Matérias-primas líquidas: As amostras foram recolhidas no passo N-1 da técnica de lavagem (passo da 1ª passagem por água purificada), após a amostragem de **L-Lisina** e **Trietilamina** com **pipetas de maior porte**. A amostragem foi também efectuada por técnicos especializados para o efeito e foram recolhidas 5 amostras para análise por TOC. A recolha de amostras de água de enxaguamento é mostrada nas figuras subsequentes:

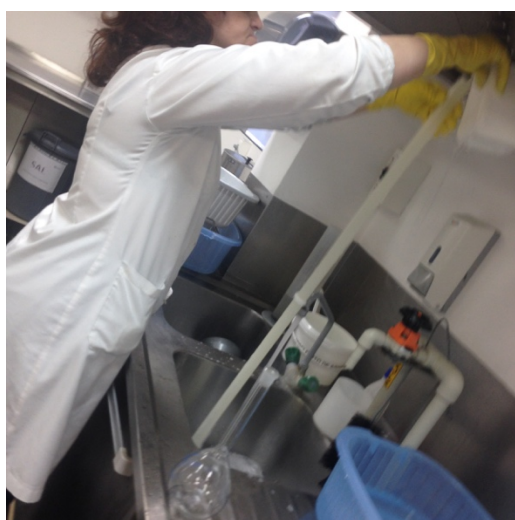


Figura 2.27 – Recolha de amostras de *rinse*



Figura 2.28 – Amostras para a análise em TOC

As amostras foram recolhidas em balões de 500 ml e levados para a análise de determinação TOC (Figura 2.28).

- API's produzidos nas TNE – A recolha de amostras deste tipo de produtos seguiu o mesmo padrão que a amostragem por *swab* das matérias-primas sólidas. Foram utilizados o mesmo modelo de *swabs* e a amostragem foi, desta feita, efectuada com **amostradores de 1 e 2 câmaras**. Não foi necessário o auxílio com instrumentos auxiliares (**espátulas ou colheres**).

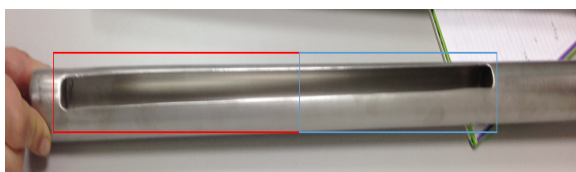


Figura 2.29 – Pontos críticos do amostrador de 1 câmara (Pontos A e B)



Figura 2.30 – Ponto crítico do amostrador de 1 câmara (Ponto C)

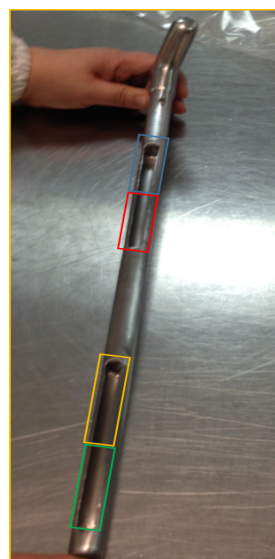


Figura 2.31 - Pontos críticos do amostrador de 2 câmaras (Pontos A, B, C e D)



Figura 2.32 - Ponto crítico do amostrador de 2 câmaras (Ponto E)



Figura 2.33 - *Swabbing* do amostrador de 1 câmara





Figura 2.34 - *Swabbing* do amostrador de 2 câmaras

As amostras foram encaminhadas para o Controlo de Qualidade para a pesquisa de vestígios de **Limeciclina** e **Cloridrato de Tetraciclina** por HPLC.

### 2.7.1. Breve descrição dos compostos utilizados

- **Cloridrato de Tetraciclina** – Este composto é um antibiótico pertencente à família das **Tetraciclinas** e como tal possui um amplo espectro de acção. As suas indicações incluem a toma (por via oral) para o tratamento de infecções microbianas, tanto por bactérias gram-positivas, como por bactérias gram-negativas; infecções por *Rickettsia*; pneumonias micoplásmicas; entre outros, sendo também utilizada em situações quando a **Penicilina** (*Penicillium*) é contra-indicada [32]. Em termos físicos, este composto é normalmente apresentado como sendo um pó de cor amarelada.
- **Limeciclina** – A **Limeciclina** faz parte do grupo das tetraciclinas e é utilizada como tratamento, em condições usuais, para as mesmas patologias do que as outras tetraciclinas. No entanto, a aplicação mais utilizada para este tipo de antibiótico é a prescrição para o tratamento de doenças relacionadas com a pele, sendo muito utilizado para como terapia para a acne [33][34].
- **Trietilamina** – Este composto apresenta-se como uma substância líquida, incoloro e com um odor forte. É muito aplicado como solvente em síntese química, sendo também utilizado para o fabrico de agentes hidrofóbicos, como catalisador, inibidor de corrosão e propulsor de reacções [35].
- **L-Lisina** – A **L-Lisina** é um aminoácido muito utilizado como tratamento alternativo para a herpes e para a osteoporose. Outras aplicações envolvem a utilização como

impulsionador de aptidão física, tratamento do *stress* e diabetes [36]. O composto apresenta-se normalmente como um líquido amarelado com um forte odor característico.

## 2.8. Estudo do comportamento da instrumentação de TOC face à presença de detergente

A análise de TOC efectuada às amostras de *rinse* pode conter vestígios de detergente utilizado para a lavagem dos equipamentos. Apesar de existir metodologias para a determinação da quantidade de detergente em amostras e para o cálculo de limites de aceitação de agentes de limpeza, não existem procedimentos específicos para o caso dos equipamentos de amostragem onde se poderia, eventualmente, determinar a quantidade de detergente ainda presente no equipamento após a última passagem por água.

Os valores de LD<sub>50</sub>, para o caso do detergente utilizado em lavagem de equipamentos (Joel ®), não se encontram nas fichas de informação de segurança pelo que, também por este método, se torna difícil a determinação de limites de aceitação de agentes de limpeza.

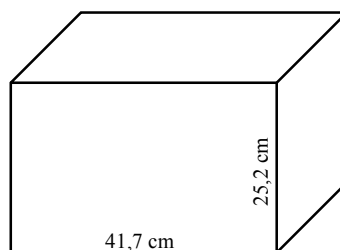
Outro caso prende-se com facto de que, a análise por determinação de TOC de uma determinada amostra, ser uma análise não específica o que pode, nos vários casos, não ser elucidativo da quantidade relativa de detergente num resultado obtido por esta metodologia quantitativa.

É com esse intuito que entendeu-se ser necessário incluir, no âmbito do presente estudo, um estudo do comportamento da análise por determinação de TOC quando estão presentes vestígios de detergente nas amostras de *rinse* recolhidas.

### 2.8.1. Preparação do estudo

O estudo foi iniciado com a determinação do número de amostras a preparar, de forma a que a concentração de detergente tivesse um padrão linear. Este pressuposto foi tomado pelo facto de ser igualmente necessário estudar a linearidade do comportamento da instrumentação nas soluções de detergente.

Na técnica de lavagem de equipamentos de amostragem são utilizados, sensivelmente, 100 ml do detergente Joel ®. Este valor é diluído num volume de água igual a uma cuba de lavagem cheia e passado no equipamento. O valor de volume da cuba é de, aproximadamente, 43820,03 cm<sup>3</sup> (ou ml) e é calculado através das medidas da mesma, ilustradas na figura seguinte



**Figura 2.35 - Cuba de lavagem de equipamento**

O LOD inerente à instrumentação de TOC é de 5 ppb e o LOQ é de 14 ppb [31]. Considerando passagens consecutivas do instrumento por água como mostra a Tabela 2-36, se admitirmos que após qualquer uma passagem de 43820,03 cm<sup>3</sup> de água no equipamento, fique uma camada de 0,1 cm de espessura de líquido residual que contém uma mistura de água e detergente, as concentrações de detergente ficam então:

**Tabela 2-36 - Simulação das passagens por água no equipamento**

	Detergente (ml)	Concentração de detergente (ml det./ml sol.)	Valor da concentração	Unidades	Concentração do detergente no resíduo (ml det./ml sol.)
<b>Colocação de detergente</b>	100	0,002282062	2282,06	ppm	1,35
<b>1ª passagem por água</b>	1,35	0,0000309	30,88	ppm	0,02
<b>2ª passagem por água</b>	0,02	0,0000004	418,68	ppb	2,50E-4
<b>3ª passagem por água</b>	2,50E-4	0,0000000	5,68	ppb	3,37E-06

Como se poderá constatar da análise da Tabela 2-36, a partir da 3ª passagem por água a concentração de detergente é quase inexistente. Assim, tendo em consideração o limite mínimo (LOQ = 14 ppb), assumindo que a quantidade total de detergente é detectada na instrumentação de TOC como sendo carbono orgânico total da amostra e os dados da Tabela 2-36, é possível distinguir 3 gamas, em termos de concentração de detergente (em ppm), que cumpram obrigatoriamente as 3 condições enumeradas:

**Tabela 2-37 - Gamas para a determinação de TOC de Joel®**

<b>Gama 1</b>	0 ppm – 1,4E-2 ppm
<b>Gama 2</b>	30,88 ppm – 593,67 ppm
<b>Gama 3</b>	1156,47 ppm – 2282,06 ppm

Note-se que a primeira gama inclui a concentração de detergente igual a 0 ppm, ou seja, água sem qualquer mistura de detergente.

Uma vez que se necessita igualmente de estudar a linearidade da instrumentação face às diferentes concentrações de detergente em amostras, subdividem-se as gamas com 5 amostras cada uma, onde duas destas são o limite mínimo e o limite máximo da gama correspondente. Estudar-se-á assim a linearidade por gamas, evitando riscos de não-linearidade no total. Tem-se igualmente em linha de conta que cada amostra necessita de possuir 500 ml de volume. As amostras a preparar são então:

**Tabela 2-38 - Concentração de detergente em 500 ml de mistura**

<b>Amostra</b>	<b>Volume de detergente em 500 ml de solução (ml)</b>
Amostra 1	0
Amostra 2	1,75E-06
Amostra 3	3,50E-06
Amostra 4	5,25E-06
Amostra 5	7,00E-06
Amostra 6	0,02
Amostra 7	0,09
Amostra 8	0,16
Amostra 9	0,23
Amostra 10	0,30
Amostra 11	0,58
Amostra 12	0,72
Amostra 13	0,86
Amostra 14	1,00
Amostra 15	1,14

## 2.9. Metodologias de análise

Como foi já referido, os métodos de análise utilizados foram a determinação de TOC e o HPLC. As especificações iniciais inerentes a cada tipo de análise são então apresentadas de seguida. Para o primeiro caso (TOC) a análise foi executada pelo estudante pelo que o controlo de repetibilidade e a calibração do método teve de ser efectuado pelo mesmo sempre que isso foi necessário. Para o caso da análise por HPLC, a metodologia foi executada pelos técnicos de laboratório do departamento de controlo de qualidade da Cipan pelo que todos passos de calibração, aplicabilidade e repetibilidade, foram executados pelos mesmos.

### 2.9.1. Análise por determinação de TOC

A determinação de TOC seguiu então documentação técnica específica [37] para o efeito, onde estão presentes os passos para a análise de amostras, juntamente com a forma de calibração e os testes para controlo de repetibilidade do equipamento que têm de ser executados em todas as semanas de operação deste.

O aparelho utilizado para a determinação de TOC em amostras foi o *LABTOC* da *Pollution and Process Monitoring Ltd.* ®, que é um aparelho de TOC do tipo diferencial (ver subcapítulo 1.6.8).

O método foi validado e o relatório de validação está presente com documentação interna [31], onde foram determinados os limites de detecção (5 ppb) e de quantificação (14 ppb).

#### 2.9.1.1. Calibração do método

Antes do início de qualquer análise é necessário a calibração do método. Com este passo aumenta-se a fiabilidade dos resultados obtidos na altura da análise de amostras, evitando-se potenciais erros e a disparidade de resultados.

A calibração é iniciada com a inicialização do equipamento, da lâmpada de UV e com a abertura da torneira de azoto, cerca de 1h antes do início de qualquer ensaio (neste período ocorrerá o aquecimento da lâmpada).

Após este período de tempo são injectadas no sistema as soluções padrão de sacarose de 500 ppb ( $r_s$ ) e de água para cromatografia ( $r_w$ ) (*MilliQ* ®). A curva de calibração é traçada e é imprimida, pelo que esta satisfaz se os desvios à mesma forem  $\leq 10$  ppb e se o valor de TOC para o branco (água para cromatografia)  $\leq 100$  ppb (0,10 ml/l).

#### 2.9.1.2. Adequabilidade do sistema

A análise da adequabilidade do sistema irá servir para testar a resposta do método para garantir a fiabilidade dos resultados. Isto é efectuado com a solução padrão de sacarose ( $r_s$ ), com o branco ( $r_w$ ) e com uma solução padrão de 1,4-Benzoquinona 500 ppb ( $r_{ss}$ ).

Com os valores devidamente imprimidos, calcula-se a eficiência de resposta com auxílio da equação 11 e o limite de resposta através de:

$$\text{Limite de Resposta (ppb)} = r_s - r_w \quad (22)$$

A avaliação destes dois parâmetros é efectuada com recurso ao critério enunciado no subcapítulo 1.6.8 (i.e. sistema satisfaz se a eficiência de resposta estiver compreendida entre 85% e 115%).



### 2.9.1.3. Repetibilidade do método

O controlo de repetibilidade do equipamento é efectuado semanalmente, seguindo o capítulo presente em instrução técnica para este efeito. São utilizadas as soluções usadas na adequabilidade, variando-se o número de réplicas por amostra.

No final da análise de todas as amostras, calculam-se as médias dos 5 resultados obtidos para as soluções  $r_w$  e  $r_s$ . O critério de aceitação da repetibilidade é de 10 ppb e é este o utilizado para comparação dos resultados. Os valores obtidos necessitam de estar dentro da gama de aceitação definida pelos valores das médias somando 10 ppb e pelos valores das médias subtraindo 10 ppb.

### 2.9.1.4. Análise das amostras

Após todos os testes de calibração, adequabilidade e repetibilidade, procede-se às análises das amostras tanto do ensaio com detergente, como das águas de enxaguamento. Estas executadas seguindo escrupulosamente a instrução técnica, no capítulo destinado para esse efeito.

Os resultados obtidos da análise de determinação de TOC com este método estão presentes no capítulo seguinte.

## 2.9.2. Análise por HPLC

A análise por HPLC serviu para análise de amostras de *swab* recolhidas nos equipamentos de amostragem de sólidos. Esta forma de análise seguiu duas metodologias: a análise para a pesquisa de resíduos de Cloridrato de Tetraciclina em *swabs*; a análise para a pesquisa de Limeciclina em *swabs*. Estas técnicas foram executadas pelos técnicos de laboratório do Departamento de Controlo de Qualidade da Cipan seguindo escrupulosamente as indicações dadas pela Farmacopeia Europeia.

### 2.9.2.1. Análise para a pesquisa de Limeciclina em *swabs*

Os parâmetros utilizados para a metodologia a seguir na pesquisa de Limeciclina em *swabs* estão presentes na Farmacopeia Europeia.

A preparação das soluções é efectuada com a adição de 4,0 ml de Ácido Clorídrico (0,01M) ao frasco de amostragem com o *swab*. As amostras são depois levadas a banho de ultra-sons durante 15 minutos. Apresentam-se os principais parâmetros, sendo que a preparação das soluções de referências e de teste não será descrita:

- Altura de coluna: 0,25 m;

- Diâmetro de coluna: 4,6 mm;
- Fase estacionaria: Copolímero R de Estireno Divinilbenzeno (8  $\mu$ m) e 10 nm de tamanho de poro;
- Temperatura: 60 °C;
- Fluxo da fase móvel: 1,0 ml/min;
- Injeção: 20  $\mu$ l;
- Comprimento de onda ( $\lambda$ ): 254 nm;
- LOD do método: 0,10  $\mu$ g/ml;
- LOQ do método: 0,47  $\mu$ g/ml.

#### 2.9.2.2. Análise para a pesquisa de Cloridrato de Tetraciclina em *swabs*

Para a análise de pesquisa de Cloridrato de Tetraciclina nos *swabs* a metodologia é semelhante. A preparação das soluções é igualmente com 4,0 ml de Ácido Clorídrico (0,01 M) ao frasco de amostragem. Resumem-se as características da análise, sendo que a preparação das soluções de apoio (teste e referência) se encontra na Farmacopeia:

- Altura de coluna: 0,25 m;
- Diâmetro de coluna: 4,6 mm;
- Fase estacionaria: Copolímero R de Estireno Divinilbenzeno (8  $\mu$ m) e 10 nm de tamanho de poro;
- Temperatura: 60 °C;
- Fluxo da fase móvel: 1,0 ml/min;
- Injeção: 20  $\mu$ l;
- Comprimento de onda ( $\lambda$ ): 254 nm;
- LOD do método: 0,12  $\mu$ g/ml;
- LOQ do método: 0,59  $\mu$ g/ml.

### **3. Apresentação, tratamento e discussão dos resultados obtidos**

---

As análises efectuadas produziram resultados que necessitam de ser tratados e analisados de forma individual, com o objectivo de tornar a descrição dos mesmos mais explícita e concreta.

Assim, as metodologias de análise de amostras subdividem-se nas três técnicas executadas, sejam pelo estudante (análises de TOC de amostras de diluição de detergente e análises de TOC de amostras de *rinse*) sejam pelos técnicos de laboratório no controlo de qualidade (análises por HPLC das amostras de *swab*).

Em seguida, passar-se-á à apresentação dos resultados que foram obtidos acompanhados pelo seu tratamento e interpretação (discussão).

---

**VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE AMOSTRAGEM NA INDÚSTRIA  
FARMACÉUTICA**

**Apresentação, tratamento e discussão dos resultados obtidos**

### 3.1. Resultados e análise do estudo do comportamento da instrumentação de TOC face à presença de detergente

De forma a estudar o comportamento da instrumentação de TOC na presença de soluções de detergente, prepararam-se 10 soluções conforme descrito anteriormente. Uma vez que a concentração de detergente nas primeiras 5 soluções era muito baixa, optou-se por excluir a preparação destas, sendo que o estudo reservar-se-ia à análise das amostras preparadas.

Com efeito, a preparação das soluções foi efectuada partindo-se de uma solução-mãe preparada a partir de 2,34 gramas de detergente Joel ® diluídas em 1 litro de água de cromatografia

O método experimental iniciou-se com a calibração da instrumentação. Os resultados obtidos para os valores da calibração são apresentados de seguida, para os ensaios que foram divididos em dois dias.

#### 3.1.1. Calibração do equipamento

- Calibração dia 1

Tabela 3-1 - Dados da curva de calibração para o TOC de detergente Joel® (dia 1)

Concentração (ppb)	Output	Fit
103,14	35,00	1,02
206,29	70,00	3,37
309,61	103,00	-0,71
412,94	136,00	-4,99
515,90	173,00	2,87
14,65	5,50	Branco

Pela análise da Tabela 3-1, é possível constatar que não existem desvios significativos (acima de 10 ppb) e o valor de TOC para o branco (14,65) é inferior a 100 ppb pelo que a curva de calibração é considerada satisfatória.

Os valores de  $r_w$ ,  $r_{ss}$  e  $r_s$  estão presentes na tabela em seguida.

**Tabela 3-2 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação (dia 1)**

<b>Título</b>	<b>Output</b>	<b>Concentração (ppb)</b>
$r_w$	7,00	19,60
$r_{ss}$	153,00	458,90
$r_s$	171,00	512,78

Calculando os valores da eficiência e do limite de resposta, com recurso às equações 11 e 22, obtêm-se os respectivos valores (Tabela 3-3).

**Tabela 3-3 - Parâmetros de resposta de TOC (dia 1)**

<b>Eficiência de resposta (%)</b>	89,07
<b>Limite de resposta (ppb)</b>	493,18

O sistema está apto e eficiente para a realização de ensaios uma vez que a eficiência de resposta se encontra entre os 85% e os 115% e os parâmetros de calibração se encontram dentro dos critérios.

- Calibração dia 2

**Tabela 3-4 - Dados da curva de calibração para o TOC de detergente Joel® (dia 2)**

<b>Concentração (ppb)</b>	<b>Output</b>	<b>Fit</b>
103,75	24,00	-8,55
206,55	55,00	4,95
309,88	82,00	1,10
413,09	119,00	-0,66
516,19	139,00	-0,40
20,06	4,50	Branco

A Tabela 3-1 demonstra que não existem desvios acima de 10 ppb e que o valor de TOC para o branco é de 20,06 e inferior a 100 ppb pelo que a curva de calibração é satisfatória.

Os valores de  $r_w$ ,  $r_{ss}$  e  $r_s$  estão presentes na Tabela 3-5.

**Tabela 3-5 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação (dia 2)**

<b>Título</b>	<b>Output</b>	<b>Concentração (ppb)</b>
$r_w$	4,00	18,92
$r_{ss}$	143,00	529,91
$r_s$	143,00	529,91

Calculando os valores da eficiência e do limite de resposta, tem-se:

**Tabela 3-6 - Parâmetros de resposta de TOC (dia 2)**

<b>Eficiência de resposta (%)</b>	100
<b>Limite de resposta (ppb)</b>	519,99

Procedeu-se então à análise das amostras de mistura de detergente, nos dois dias. Foram efectuadas 3 réplicas de medição por parte da instrumentação, pelo que se obtiveram 3 valores por cada amostra. O valor de TOC a considerar é então a média aritmética destes 3 valores. Note-se que existem amostras pelas quais se necessitou de proceder a diluições, sendo que estas estão descritas nas observações. Os valores apresentados são ainda valores antes de multiplicadas as taxadas de diluição e antes de descontados o valor de TOC do branco.

### 3.1.2. Apresentação dos resultados obtidos

**Tabela 3-7 - Valores de TOC obtidos para o ensaio com a solução de detergente JOEL ®**

<b>Amostra</b>	<b>Média das concentrações de TOC</b>	<b>Unidades</b>	<b>Observações</b>
Amostra 5	11,54	ppb	
Amostra 6	99,13	ppb	Factor de diluição 1/10
Amostra 7	466,88	ppb	Factor de diluição 1/10
Amostra 8	88,07	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 9	108,19	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 10	144,38	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 11	340,13	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 12	423,21	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 13	479,15	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 14	57,19	ppb	Factor de diluição 1/1000
Amostra 15	81,28	ppb	Factor de diluição 1/1000

Note-se que para a primeira gama, apenas foi analisada a amostra 5 uma vez que, pelo facto da gama de trabalho ser muito baixa nestes valores, e tendo em conta o limite de quantificação do método, os valores apresentariam desvios muito acentuados dos valores reais.

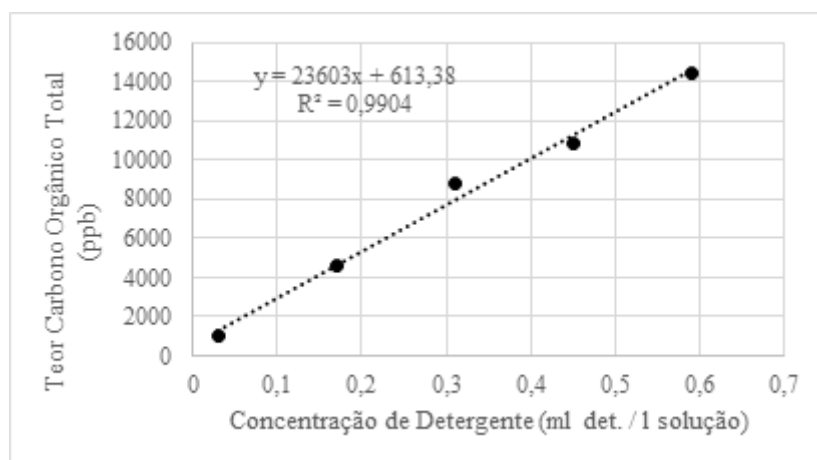
Após a obtenção dos resultados, o tratamento passou pelo cálculo do valor real de TOC das amostras e pela verificação da linearidade destes. Desta forma, o tratamento dos dados foi efectuado a cada gama separadamente, os valores reais correspondem à multiplicação dos valores de TOC pelos respectivos factores de diluição descontando os valores de TOC do branco.

### 3.1.3. Tratamento dos resultados da gama 2 (30,88 ppm – 593,67 ppm)

**Tabela 3-8 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para a gama 2**

Amostra	Concentração (ml/l sol.)	Valor correspondente na gama (ppm)	Valor de TOC (ppb)	Factor de diluição	Valor real (ppb)
Amostra 6	0,03	30,88	99,13	1/10	976,66
Amostra 7	0,17	171,57	466,88	1/10	4654,16
Amostra 8	0,31	312,27	88,07	1/100	8792,36
Amostra 9	0,45	452,97	108,19	1/100	10804,36
Amostra 10	0,59	593,67	144,38	1/100	14423,36

O traçamento dos pontos elucida sobre a linearização, ou não, dos valores obtidos para esta gama, como é visível pelo Gráfico 3-1.



**Gráfico 3-1 - Linearização dos valores de TOC para a gama 2**



### 3.1.4. Discussão dos resultados obtidos para a gama 2

Tendo em conta os valores obtidos para as diferentes concentrações nesta gama de soluções, bem como o respectivo gráfico de valores de TOC, é relativamente fácil constatar que os pontos seguem um padrão linear. O valor de  $R^2$  obtido (0,99037) é considerado bastante satisfatório na medida em que todos os pontos se encontram bem representados pela recta traçada. O terceiro ponto (0,31; 312,27) encontra-se relativamente mais desviado, em comparação com os outros, podendo isto dever-se a um erro por parte do operador aquando da preparação desta solução.

### 3.1.5. Tratamento dos resultados da gama 3 (30,88 ppm – 593,67 ppm)

**Tabela 3-9 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para a gama 3**

<b>Amostra</b>	<b>Concentração (ml/l sol.)</b>	<b>Valor correspondente na gama (ppm)</b>	<b>Valor de TOC (ppb)</b>	<b>Factor de diluição</b>	<b>Valor de branco (ppb)</b>	<b>Valor real (ppb)</b>
Amostra 11	1,16	1156,47	340,13	1/10	20,06	33992,95
Amostra 12	1,44	1437,87	423,21	1/10	20,06	42300,95
Amostra 13	1,72	1719,27	479,15	1/100	20,06	47894,95
Amostra 14	2	2000,66	57,19	1/1000	20,06	57169,95
Amostra 15	2,28	2282,06	81,28	1/1000	20,06	81259,95

Da mesma forma que no caso anterior, a linearização dos valores é conhecida no Gráfico 3-2.

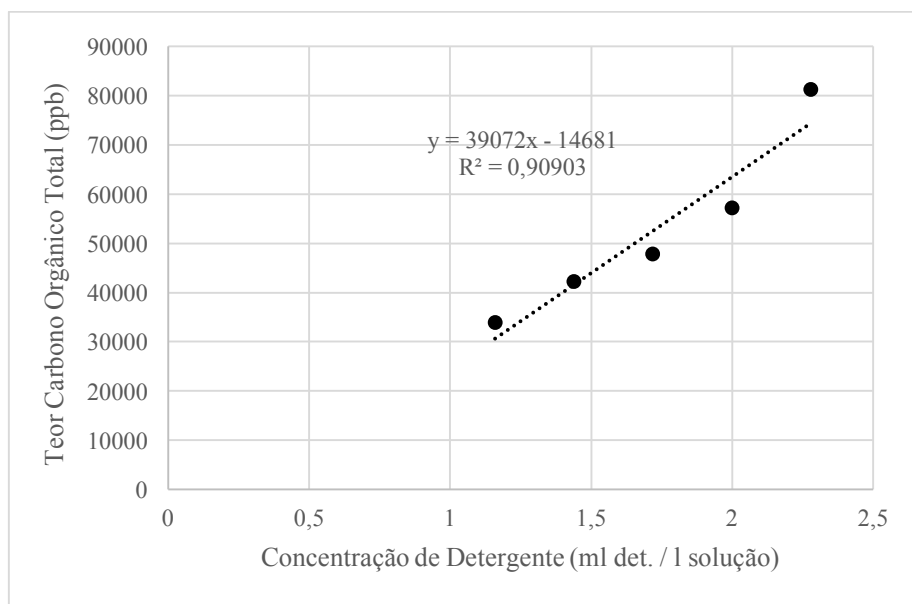


Gráfico 3-2 - Linearização dos valores de TOC para a gama 3

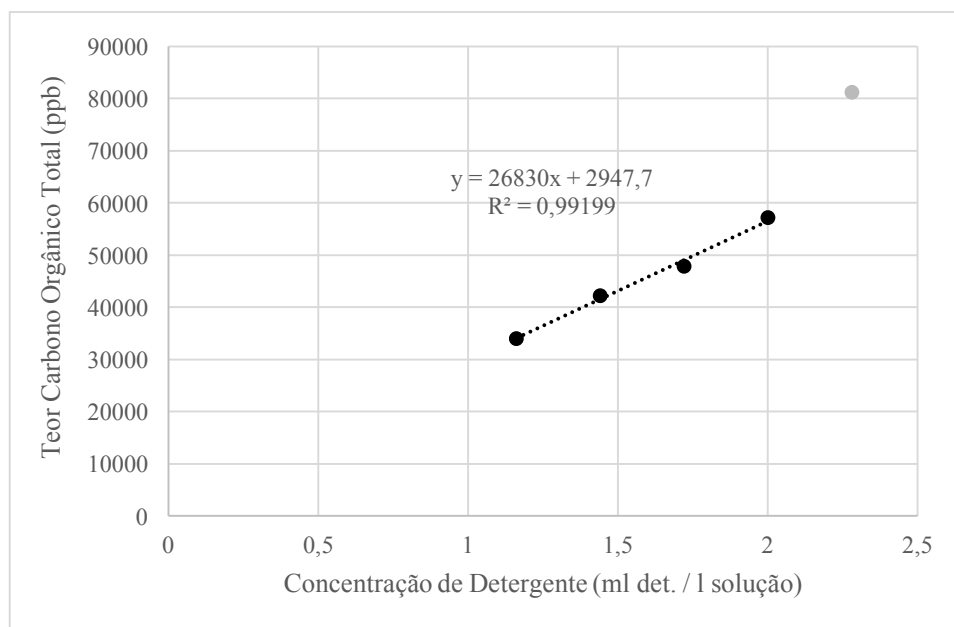


Gráfico 3-3 - Linearização dos valores de TOC para a gama 3, sem o último ponto

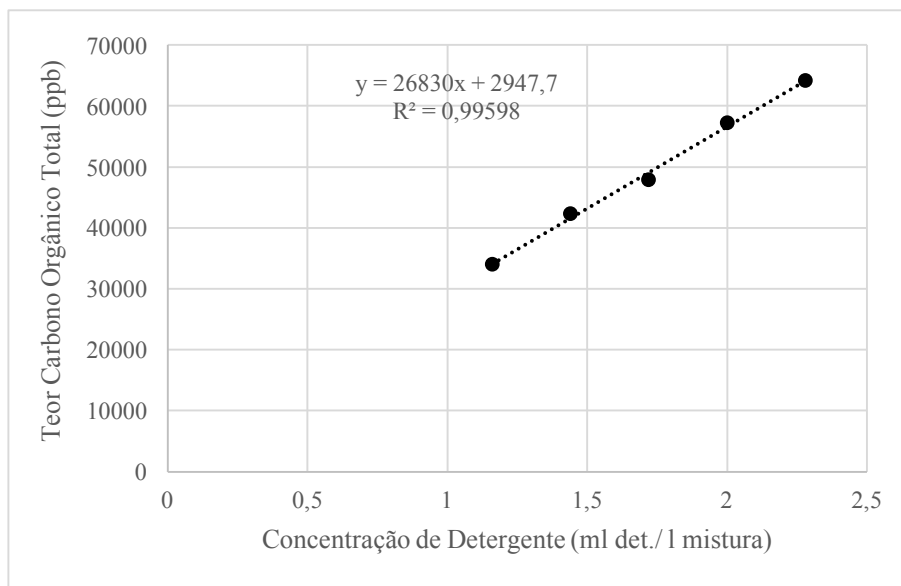


Gráfico 3-4 - Linearização dos valores de TOC para a gama 3 com simulação do último ponto

### 3.1.6. Discussão dos resultados obtidos para a gama 3

Analisando os valores obtidos para cada concentração de detergente na gama 3 é visível a linearidade da instrumentação para este conjunto de valores. O Gráfico 3-3 traduz a ideia de que aumentando a concentração de cada amostra, aumenta-se o teor em carbono orgânico, sem comprometer os valores obtidos pela instrumentação, o que demonstra que a mesma se encontra apta para a análise de amostras de água com a concentração de detergente compreendida entre estes valores. O último ponto (2,28; 81,28) encontra-se desfasado dos restantes, mas isto pode ter se devido a um ligeiro desvio à preparação correcta das soluções, o que se traduz em dados não lineares. Outra das possíveis causas do desfasamento do valor pode ser o facto deste pertencer a outra fracção (i.e. gama) de amostragem. No Gráfico 3-3 é apresentada uma linearização dos valores excluindo o último ponto, note-se que o valor de  $R^2$  melhorou passando de 0,90903 para 0,99199. Para o Gráfico 3-4, houve a tentativa de extrapolação do referido ponto utilizando a equação da recta de linearização dos valores do Gráfico 3-3. O valor de  $R^2$  ficou naturalmente modificado, no entanto, as alterações não são significativas para garantir que os valores não se linearizam por esta forma. Pode ser então assegurado, com elevado nível de segurança, que os valores se comportam linearmente nesta gama e que o valor do último ponto é de (2,28; 64,14).

### 3.2. Resultados e análise dos valores de TOC obtidos por análise de amostras de *rinse* de equipamento de amostragem

O procedimento experimental para a obtenção dos valores de TOC de amostras de *rinse* foi dividido em dois dias. No primeiro foram analisadas amostras de enxaguamento de **pipetas de maior porte** utilizadas para a amostragem de **Trietilamina**, no segundo dia foram analisadas amostras de *rinse* de **pipetas de maior porte** utilizadas na amostragem de **L-Lisina**. Neste último dia foi também necessário proceder a teste de repetibilidade do equipamento, utilizando as instruções técnicas para este efeito.

#### 3.2.1. Análise de TOC a amostras de água de enxaguamento (*rinse*) de pipetas de maior porte utilizadas para a amostragem de Trietilamina.

##### 3.2.1.1. Calibração do equipamento

Na Tabela 3-10 é possível observar que a calibração do equipamento foi bem efectuada uma vez que os desvios não são superiores a 10 ppb e o valor do TOC para o branco é inferior a 100 ppb. A curva de calibração é assim considerada satisfatória.

**Tabela 3-10 - Dados da curva de calibração para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina**

Concentração (ppb)	<i>Output</i>	<i>Fit</i>
102,00	30,00	2,53
204,14	58,00	-0,10
306,28	86,00	-1,99
408,35	115,00	0,58
510,49	143,00	0,27
9,10	3,00	Branco

**Tabela 3-11 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina**

<b>Título</b>	<b>Output</b>	<b>Concentração (ppb)</b>
$r_w$	6,00	19,82
$r_{ss}$	149,00	532,68
$r_s$	143,00	510,76

**Tabela 3-12 - Parâmetros de resposta da instrumentação para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina**

<b>Eficiência de resposta (%)</b>	104,87
<b>Limite de resposta (ppb)</b>	123,18

O sistema encontra-se calibrado correctamente e possui uma eficiência de resposta em conformidade (entre os 85% e os 115%).

Não foi necessário proceder a testes de repetibilidade ao sistema já que estes foram executados na semana de realização das análises amostrais.

### 3.2.1.2. Apresentação dos resultados obtidos

**Tabela 3-13 - Valores de TOC obtidos de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina**

<b>Amostra</b>	<b>Média das concentrações de TOC</b>	<b>Unidades</b>	<b>Observações</b>
Amostra 1	90,37	ppb	Factor de diluição 1/10
Amostra 2	70,35	ppb	Factor de diluição 1/10
Amostra 3	98,64	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 4	85,07	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 5	89,19	ppb	Factor de diluição 1/100

Aos resultados obtidos, é necessário o cálculo de valores reais através da multiplicação dos valores obtidos pela instrumentação com os factores de diluição. Esta operação é efectuada no tratamento de resultados, em seguida.

### 3.2.1.3. Tratamento dos resultados

Tabela 3-14 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina

Amostra	Valor de TOC (ppb)	Factor de diluição	Valor real (ppb)
Amostra 1	90,37	1/10	903,7
Amostra 2	70,35	1/10	703,5
Amostra 3	98,64	1/100	9864,0
Amostra 4	85,07	1/100	8507,0
Amostra 5	89,19	1/100	8919,0

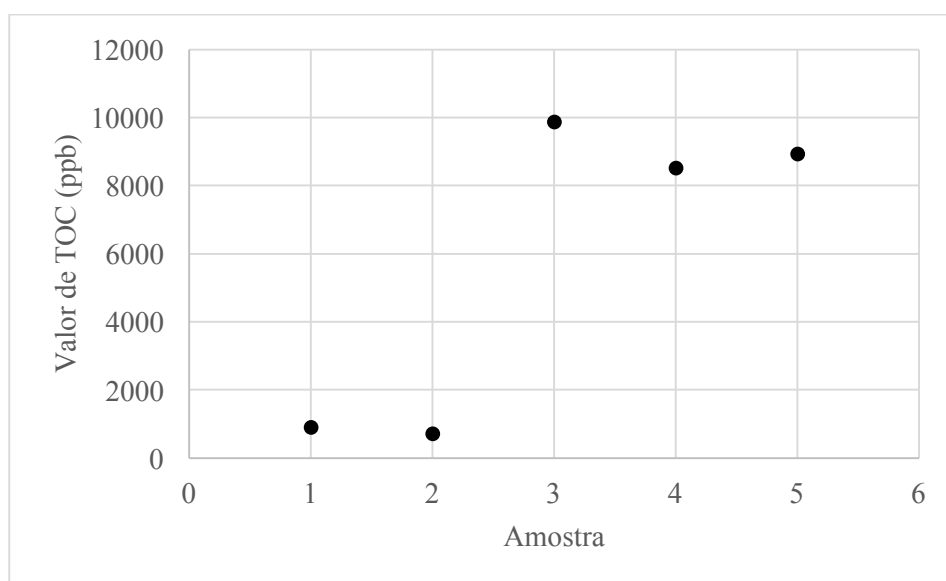


Gráfico 3-5 - Valores de TOC de cada amostra de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina

### 3.2.1.4. Discussão dos resultados obtidos

Analisando a Tabela 3-14 é possível verificar quais os valores que se obtiveram com a análise de TOC de cada amostra de *rinse*. Denota-se que existem duas gamas de valores distintas e bem distanciadas. Esta evidência é bem visível no Gráfico 5. Os primeiros dois valores encontram-se perto dos 1000 ppb (i.e. 1 ppm) ao passo que os últimos três se encontram perto dos 10000 ppb (10 ppm). Estas discrepâncias podem ter várias origens. A primeira poderá ser a quantidade de

água utilizada para a execução da técnica de lavagem, que poderá ter sido maior ou menor consoante o conjunto de dados que se encontre a analisar. A segunda variação poderá ser a quantidade de detergente utilizado, bem como o número de passagens por água purificada nos últimos passos da técnica (o facto de ser necessário recorrer a diluições pode ser ilustrativo desta causa). Como terceira, e última, possível origem de discrepância, poderá ser o tipo de matéria amostrada que devido a propriedades, como a viscosidade e a solubilidade em água, poderá ter influência aquando da realização de análises tão sensíveis como a de TOC.

### 3.2.2. Análise de TOC a amostras de água de enxaguamento (*rinse*) de pipetas de maior porte utilizadas para a amostragem de L-Lisina.

#### 3.2.2.1. Calibração do equipamento

Tabela 3-15 - Dados da curva de calibração para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina

Concentração (ppb)	Output	Fit
105,00	28,00	-0,99
209,83	57,00	0,77
314,82	85,00	-1,86
419,48	115,00	2,61
524,48	143,00	-1,08
25,20	7,00	Branco

Tabela 3-16 - Valores de TOC para a calibração da instrumentação para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina

Título	Output	Concentração (ppb)
$r_w$	5,00	19,07
$r_{ss}$	144,00	527,01
$r_s$	136,00	498,12

Com os dados obtidos, e presentes na Tabela 3.17, conclui-se que o sistema se encontra devidamente calibrado e apto para a realização de ensaios experimentais. Foi necessária a realização de testes de repetibilidade de equipamento, como se irá apresentar em seguida.

**Tabela 3-17 - Parâmetros de resposta da instrumentação para o TOC de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina**

<b>Eficiência de resposta (%)</b>	106,03
<b>Limite de resposta (ppb)</b>	479,05

### 3.2.2.2. Repetibilidade do equipamento

Para a execução dos testes de repetibilidade procedeu-se em conformidade com a técnica disponível [37], utilizando a Água para cromatografia (*MilliQ*) e a solução padrão de Sacarose . Os valores obtidos estão presentes na Tabela 3-18..

**Tabela 3-18 - Valores de TOC para a repetibilidade do equipamento**

<b>Composto</b>	<b>Concentração (ppb)</b>	<b>Output</b>
<i>MilliQ</i>	15,37	4,00
<i>MilliQ</i>	19,07	5,00
<i>MilliQ</i>	26,47	7,00
<i>MilliQ</i>	26,47	7,00
<i>MilliQ</i>	26,47	7,00
Sacarose	530,61	145,00
Sacarose	519,79	142,00
Sacarose	519,79	142,00
Sacarose	527,01	144,00
Sacarose	534,22	146,00

Os critérios de aceitação para repetibilidade definiram-se, como ilustra a Tabela 3-19.



Os valores obtidos não se encontram fora dos limites definidos pelos critérios de aceitação para as repetibilidades de cada composto, pelo que o sistema se encontra em conformidade para a realização de actividades experimentais.

Tabela 3-19 - Critérios de aceitação para a repetibilidade do equipamento

	Critério de aceitação $\bar{X} \pm 10 \text{ ppb}$	Valor máximo (ppb)	Valor mínimo (ppb)
<b>Repetibilidade da Sacarose</b>	$526,28 \pm 10 \text{ ppb}$	534,22	519,72
<b>Repetibilidade do <i>MilliQ</i></b>	$22,77 \pm 10 \text{ ppb}$	26,47	15,37

### 3.2.2.3. Apresentação dos resultados obtidos

Tabela 3-20 - Valores de TOC obtidos de amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina

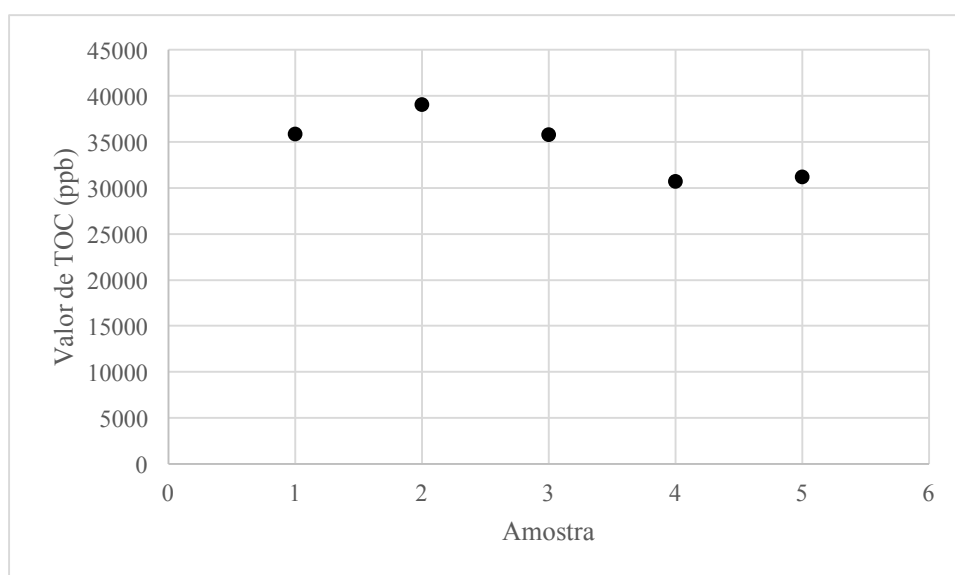
Amostra	Média das concentrações de TOC	Unidades	Observações
Amostra 1	358,50	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 2	390,62	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 3	357,89	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 4	306,89	ppb	Factor de diluição 1/100
Amostra 5	311,75	ppb	Factor de diluição 1/100

O tratamento de resultados passará, à semelhança do efectuado para o outro caso, pela multiplicação dos valores obtidos pelos factores de diluição, como se segue.

### 3.2.2.4. Tratamento de resultados

Tabela 3-21 - Valores de TOC obtidos e respectivo tratamento para amostras de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina

Amostra	Valor de TOC (ppb)	Factor de diluição	Valor real (ppb)
Amostra 1	358,50	1/100	35850
Amostra 2	390,62	1/100	39062
Amostra 3	357,89	1/100	35789
Amostra 4	306,89	1/100	30689
Amostra 5	311,75	1/100	31175



**Gráfico 3-6 - Valores de TOC de cada amostra de *rinse* em pipetas de maior porte utilizadas em L-Lisina**

### 3.2.2.5. Discussão dos resultados obtidos

Os valores obtidos para estes equipamentos situam-se entre os 30000 (30 ppm) e os 40000 ppb (40 ppm). Esta distribuição visível com o auxílio do Gráfico 3-6 onde se nota que, apesar de existir variação dos valores, a mesma não é suficientemente significativa para se concluir que se possam ter introduzido modificações aquando da prática da técnica de lavagem do equipamento. Estes valores demarcam-se, em grande medida, o que pode ser uma consequência da tipologia do composto amostrado sendo esta caracterizada por factores como a facilidade de remoção, viscosidade ou mesmo pela afinidade que o composto poderá ter para com o material de composição do equipamento de amostragem.

## 3.3. Resultados e análise dos valores de HPLC obtidos por análise de amostras de *swab* de equipamento de amostragem

As amostras recolhidas por via e *swabbing* em equipamento de amostragem de sólidos (tanto em matérias-primas, como em produto final da Cipan, foram submetidas a análises de HPLC, estas executadas por técnicos laboratoriais dos laboratórios do Departamento de Controlo de Qualidade da empresa. Apenas foram facultados os resultados das análises requisitadas, sendo a informação detalhada de cada análise (ex.: cromatograma, picos e outros) tida como documentação não

acessível para o presente estudo. As validações das metodologias encontram-se também como informações confidenciais, sendo que também não foi possível ter acesso a estas.

### 3.3.1. Apresentação e discussão dos resultados de HPLC de *swabbing* de equipamentos de amostragem de Cloridrato de Tetraciclina

#### 3.3.1.1. Apresentação dos resultados obtidos

Foram executadas análises a equipamentos utilizados em amostragem de cinco lotes diferentes. Um destes foi executado na secção das TNE e os outros na secção de Armazém de Matérias-Primas.

Os resultados obtidos a cada procedimento de *swabbing*, a cada equipamento, encontram-se sintetizados em cada tabela, onde se mostram os resultados por ponto crítico, e por equipamento, como se segue.

**Tabela 3-22 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em amostrador de 2 câmaras utilizados em Cloridrato de Tetraciclina, na zona das TNE**

Amostra	Valor de Cloridrato de Tetraciclina determinado pelo HPLC (ppm)
Ponto A	1,4
Ponto B	4,3
Ponto C	8,6
Ponto D	2,1
Ponto E	3,8

**Tabela 3-23 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em amostradores básicos de menor e maior porte utilizados em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas**

Amostra	Valor de Cloridrato de Tetraciclina determinado pelo HPLC (ppm)
Ponto A	*
Ponto A	2,9
Ponto A <sup>5</sup>	58
Ponto A	*

\*-Valores abaixo de LD

<sup>5</sup> Valor obtido pela análise do *swab* utilizado para recolha de amostra no amostrador básico de maior porte.

**Tabela 3-24 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em colheres de menor porte utilizadas em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas**

Amostra	Valor de Cloridrato de Tetraciclina determinado pelo HPLC (ppm)
Ponto A	*
Ponto B	*

\*-Valores abaixo de LD

**Tabela 3-25 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em espátulas de menor porte utilizadas em Cloridrato de Tetraciclina, na zona do Armazém de Matérias-primas**

Amostra	Valor de Cloridrato de Tetraciclina determinado pelo HPLC (ppm)
Ponto A	*
Ponto A	*
Ponto A	*
Ponto A	*
Ponto A	*

\*-Valores abaixo de LD

### 3.3.1.2. Discussão dos resultados obtidos

Analisando os resultados obtidos e representados nas tabelas correspondentes, é visível que existe uma maior concentração de resíduos de **Cloridrato de Tetraciclina** em amostradores de 2 câmaras utilizados nas TNE, comparativamente aos valores obtidos para os equipamentos utilizados para a amostragem deste produto, na secção de Armazenamento de Matérias-primas. Isto pode dever-se ao facto de que os amostradores utilizados nas TNE, para a amostragem dos produtos finais, possuem mais zonas críticas que são de difícil acesso para a lavagem do equipamento, ao passo que os amostradores básicos de menor porte possuem apenas uma zona crítica, em que o acesso é relativamente mais facilitado. Outra das causas para a existência da diferença de valores entre um e outro equipamento pode ser devido ao tamanho da granulometria do **Cloridrato de Tetraciclina** que, por ser um pó de granulometria muito baixa, influencia em alguma medida a sua remoção aquando a execução da técnica de lavagem.

Apesar da perceptível eficácia da técnica de lavagem neste tipo de equipamentos, as condicionantes podem ter sido assim suficientes para existência de excepções, como as que estão presentes na Tabela 3-23, onde existem os valores de 2,9 ppm e de 58 ppm após as lavagens dos amostradores básicos de maior e menor porte, respectivamente, no entanto, estas não se entendem ser em número suficiente para que a eficácia da técnica de lavagem não seja corroborada.

### 3.3.2. Apresentação dos resultados de HPLC de *swabbing* de equipamentos de amostragem de Limeciclina

#### 3.3.2.1. Apresentação dos resultados obtidos

Da mesma forma que foram efectuadas os procedimentos de *swabbing* em equipamentos de amostragem de **Cloridrato de Tetraciclina**, tanto nas zonas de Armazenamento de Matérias-primas, como nas zonas das TNE, foram executadas as mesmas análises ao API a ser produzido pela empresa na altura- a **Limeciclina**. O produto foi amostrado com 2 tipos de equipamentos de amostragem: amostradores de 2 câmaras e amostradores de 1 câmara, ambos na secção das TNE.

Os resultados apresentam-se em seguida.

**Tabela 3-26 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em amostradores de 2 câmaras utilizados em Limeciclina, na zona das TNE**

Amostra	Valor de Limeciclina determinado pelo HPLC (ppm)			
	Equip. 1	Equip. 2	Equip. 3	Equip. 4
Ponto A	*	**	*	**
Ponto B	*	**	*	**
Ponto C	*	*	*	**
Ponto D	**	**	*	1
Ponto E	*	**	*	**

\* -Valores abaixo de LD

\*\* -Valores abaixo de LQ

**Tabela 3-27 - Valores de HPLC obtidos de amostras de *swab* em amostradores de 1 câmara utilizados em Limeciclina, na zona das TNE**

Amostra	Valor de Limeciclina determinado pelo HPLC (ppm)	
	Equip. 1	Equip. 2
Ponto A	*	*
Ponto B	**	1,7
Ponto C	**	**

\* -Valores abaixo de LD

\*\* -Valores abaixo de LQ

### 3.3.2.2. Discussão dos resultados obtidos

Os resultados obtidos revelam que a aplicação das técnicas de lavagem a cada um dos equipamentos, após o procedimento de amostragem, se revelaram eficazes na medida em que, na maioria dos resultados, os valores de **Limeciclina** residual se encontra ora abaixo dos valores do Limite de Detecção (LD) ou, quando isso não se sucede, abaixo do Limite de Quantificação (LQ). Destaca-se que, para o caso dos amostradores de 2 câmaras, apenas um dos valores se revelou acima destes limites (valor de HPLC de *swabbing* do ponto D, no equipamento 4) sem que, no entanto, este possa por em causa a eficácia da técnica de limpeza pois em todos os outros pontos deste equipamento não foi encontrada uma quantidade acima do LQ do método para a análise deste equipamento. Já para os amostradores de 1 câmara apenas o valor do ponto B, no equipamento 2, se revelou quantificável (1,7 ppm), o que também não é o suficiente para ser posta em causa a eficácia da técnica. Todos os outros valores estiveram ou abaixo de LD, ou abaixo de LQ.

## **4. Processo de validação de limpeza dos equipamentos de amostragem**

---

De forma a poder ser elaborada a validação da técnica de limpeza, em termos objectivos, é necessário efectuar uma descrição detalhada dos critérios que serão utilizados.

Esta descrição contém todos os parâmetros analisados, os limites analíticos (i.e. limites de aceitação), a justificação de adaptações utilizadas, bem como os pontos cruciais que são abordados em cada análise efectuada. Para além destes, é igualmente nesta fase que serão abordados, de forma crítica, os resultados obtidos sendo os mesmos depois comparados com os critérios de validação decidindo-se se se encontram, ou não, satisfeitos os critérios de validação, já que é nestes que assentará a decisão final sobre a validação da técnica de limpeza de equipamentos de amostragem.

Relava-se que cada comparação é efectuada de forma vinculativa à anterior, ou seja, se um dado critério não é satisfeito, a análise é interrompida e a decisão acerca da validação da técnica de limpeza é, imediatamente, tomada como sendo “não-válida” pelo que, para a técnica de lavagem de material se encontrar válida necessita de satisfazer todos os critérios de validação enumerados.

---

**VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE AMOSTRAGEM NA INDÚSTRIA  
FARMACÊUTICA**

**Processo de validação de limpeza dos equipamentos de amostragem**



## 4.1. Constituição dos critérios de validação

### 4.1.1. Critério de visualmente limpo

Neste critério requer-se que não existam vestígios de resíduos visíveis em cada equipamento utilizado após o procedimento de lavagem, conforme descrito no subcapítulo 1.6.7.. Pode ser utilizado o recurso a materiais de inspecção visual, se para tal isso for necessário, no entanto, relativamente à limpeza de equipamentos de amostragem, a inspecção visual foi efectuada sem recurso de materiais adicionais, utilizando-se apenas a observação de cada material a “olho nu”, incluindo às zonas críticas. Este critério pretende fazer um primeiro rastreio acerca da eficácia da lavagem já que torna-se óbvio que uma lavagem não-eficaz (e logo não-válida) pode não remover os vestígios de compostos que vão ficando após cada passo da técnica e, por esse motivo, os vestígios vão como que acumulando no equipamento, ficando visível a sua presença após o final do processo de limpeza.

### 4.1.2. Limites de aceitação em amostras de *rinse* em equipamentos de amostragem de matéria-prima

Para a comparação dos resultados obtidos na análise das amostras de águas de enxaguamento dos equipamentos de amostragem de matérias-primas líquidas entendeu-se inicialmente utilizar um critério do menor valor calculado para  $L_3$ , conforme mostrado anteriormente. Este valor é de 0,02 ppm e corresponde ao valor de  $L_3$  calculado para a Epicloridrina ( $C_3H_5ClO$ ) em pipetas de maior porte. De forma a que este fosse passível de ser utilizado como critério de comparação para os dados de TOC obtidos, teria de ser convertido em termos de carbono orgânico, primeiramente utilizando a equação 12, da seguinte forma:

$$PM_{Epicloridrina} = 92,52 \text{ g/mol}$$

$$C(\%) = \frac{3 \times 12 \text{ (g/mol)}}{92,52 \text{ (g/mol)}} \times 100 = 38,91 \%$$

Este valor é a quantidade de carbono relativa, em percentagem, que existe numa determinada amostra da substância. Multiplicando este valor pelo limite  $L_3$  calculado, utilizando a equação 13, vem que:

$$L_3^{TOC} = 0,008 \text{ ppm} = 8 \text{ ppb}$$

Este valor seria assim passível de ser utilizado como limite de TOC para as amostras de *rinse* analisadas. Por outro lado, este valor é consideravelmente pequeno se for comparado com os valores que são habitualmente obtidos para os resultados de TOC já que é menor do que o valor do LQ do equipamento (14 ppb), o que tornaria as análises dos resultados pouco fiáveis.

Analisando com sentido crítico os valores obtidos pelo cálculo de  $L_3$ , verifica-se que os mesmos apresentam um padrão relativo de ordens de grandeza semelhante ao utilizado para o cálculo de  $L_3^{TOC}$ , isto denota que as fórmulas existentes para o cálculo de  $L_3$ , neste tipo de equipamentos se encontra pouco adaptada à realidade dos equipamentos de amostragem, na medida em que existem vários factores que se necessitam de ter em conta, devido à sua relevância, quanto à contaminação cruzada de lotes de amostragem, e que não são levados em consideração directamente quando são calculados com as fórmulas de cálculo de limites. Os parâmetros que podem influenciar o cálculo de  $L_3$ , em equipamentos de amostragem, são: o contacto total do equipamento de amostragem com o lote de matéria a amostrar, e não apenas o conteúdo que o equipamento pode albergar; o tamanho dos lotes de amostragem; as características do composto de amostragem (viscosidade, facilidade de remoção com a lavagem, etc.); espessura real do filme líquido criado (admitido como 0,05 cm), entre outros factores.

Na tentativa de se obter um possível limite de TOC para o detergente de lavagem foram efectuadas as análises de TOC de amostras de água com detergente Joel ®, contudo, tendo em conta os resultados obtidos para o referido estudo e os resultados obtidos para as amostras de *rinse* dos equipamentos não foi possível equacionar o desconto de valores dos primeiros (de uma segunda passagem por água purificada, conforme a técnica) ao TOC das amostras de *rinse* – no sentido de obter valores de TOC para os resíduos de composto amostrado – já que os valores revelaram ordens de grandeza muito distintas. Este evento é indicativo da existência de variações em cada processo de lavagem o que, naturalmente, influencia os resultados finais.

Finalmente, de forma a ser possível a execução do processo de validação deste tipo de equipamentos, conjecturou-se que o limite de aceitação (LD) de TOC a ser aplicado às amostras de águas de enxaguamento (*rinse*) seria tal que as mesmas tivessem o mesmo valor de TOC que possuem as águas potáveis, conforme a legislação da União Europeia. Este valor é de **0,5 ppm (500 ppb)** [38], sendo que este servirá como critério de comparação para as amostras analisadas, após o desconto dos valores de branco utilizados para a diluição das amostras.

#### 4.1.3. Limites de aceitação em amostras de *swab* em equipamentos de amostragem de matéria-prima

De forma a ser possível validar os resultados obtidos pelas análises de *swab*, efectuadas após a colheita de amostras nos equipamentos de amostragem de matéria-prima sólida, calcularam-se os limites de aceitação para este caso. Estes limites foram calculados recorrendo-se às equações devidas (conforme ilustrado anteriormente), pelo que os resultados obtidos pelos cálculos (resultados de  $L_3$ ) serviriam, à partida, como termo de comparação para os resultados das análises de HPLC. Utilizar-se-ia o menor valor de  $L_3$ , de entre todos os valores calculados, fazendo-se assim com que este valor fosse o que abrangesse todas as categorias de equipamentos de amostragem para este tipo de composto. Ora fazendo uma comparação de entre todos os valores calculados para  $L_3$ , para este tipo de matérias-primas, e presentes nas correspondentes tabelas, seria utilizado o valor de  $1,96 \times 10^{-6}$  ppm, correspondente ao valor de  $L_3$  para o Cloreto de Cobalto em amostradores básicos de maior porte. Este valor foi calculado com base em adaptações que foram necessárias de efectuar. Estas incluem a assunção de um valor para a taxa de recuperação de *swab* para todos as matérias-primas sólidas, que não são API's, de 80%. Ora este valor teve necessidade de ser assumido, uma vez que não existem estudos de recuperação para os referidos compostos, o que torna os cálculos pouco rigorosos e com uma probabilidade de erro muito elevada. No cálculo dos valores de  $L_3$ , o erro induzido pelo tamanho de lotes de amostragem (conforme acontece no caso das matérias-primas líquidas) terá, igualmente, influência já que todos os valores possuem, aparentemente, uma ordem de grandeza desajustada para a comparação com os valores de HPLC obtidos. Assim sendo, devido ao teor de rigorosidade necessária no cálculo, associado ao aparente maior ajuste dos valores de  $L_3$  obtidos para os API's que são utilizados como matéria-prima e ao facto de se ter analisado este tipo de matéria no presente âmbito, optou-se por utilizar como limite de aceitação (LD) o valor de **7,50 ppm**. Este é correspondente ao valor de  $L_3$  calculado para o Cloridrato de Demeclociclina em amostradores básicos de maior porte.

#### 4.1.4. Limites de aceitação em amostras de *swab* em equipamentos de amostragem de produto final

Para o cálculo de limite de aceitação para as amostras de *swab* de equipamentos de amostragem de produto final, a ser utilizado como critério de validação, foi utilizado o menor valor de entre todos os valores calculados para os princípios-ativos produzidos. Este valor foi calculado de com recurso às formulas correspondentes, sendo que todos os valores necessários para os cálculos intermédios, à excepção do valor da taxa de recuperação de *swab* para a Oxitetraciclina Cálcica

(assumido como sendo de 80%), estão presentes e comprovados em documentação industrial interna. Este facto elevou o grau de fiabilidade dos cálculos, contribuindo para o ajuste dos valores obtidos, em termos de ordens de grandeza, aos valores habitualmente obtidos em estudos com o mesmo teor que o presente. O valor utilizado como limite de aceitação (LD) para efeitos de comparação com os resultados de HPLC, obtidos para as amostras de *swab* equipamentos de amostragem de produto final, foi de **2,07 ppm** (valor correspondente ao  $L_3$  calculado para a Oxitetraciclina Cálcica amostrada com amostradores de 1 câmara).

## 4.2. Comparação dos valores obtidos com os critérios de validação

De forma a ser tomada uma decisão sobre a validação da técnica de limpeza, para cada tipo de equipamentos de amostragem, apresentam-se as tabelas comparativas com os resultados obtidos para as análises efectuadas em comparação com os respectivos limites de aceitação. Estas são divididas por tipologia de equipamento e por secção de amostragem, conforme se segue (ver página seguinte).

Tabela 4-1 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Limeciclina nas TNE

Produto	Limeciclina					
Secção	Transformações Não-Estéreis (TNE)					
Equipamento	Amostrador de 2 câmaras				Amostrador de 1 câmara	
Data de utilização do equipamento	22-06-2015	06-07-2015	06-07-2015	13-07-2015	13-07-2015	14-07-2015
Data de lavagem	22-06-2015	06-07-2015	06-07-2015	13-07-2015	13-07-2015	14-07-2015
I. Execução de inspecção visual						
I.1 Lavagem conforme a técnica	C	C	C	C	C	C
I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem	C	C	C	C	C	C
I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)	C	C	C	C	C	C
I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras	C	C	C	C	C	C
I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento	C	C	C	C	C	C
II. Recolha de amostras						
II.1 Colheita amostras nº	1	2	3	4	5	6
II.2 Data da colheita de amostras	22-06-2015	06-07-2015	06-07-2015	13-07-2015	13-07-2015	14-07-2015
III. Colheita de amostras nos pontos críticos						
III.1 Técnica de colheita de amostras	Swab	Swab	Swab	Swab	Swab	Swab
III.2 Tipo de análise	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC
III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07	2,07
III.6 Resultado de HPLC no ponto A (ppm)	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD
III.7 Resultado de HPLC no ponto B (ppm)	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LQ	1,7
III.8 Resultado de HPLC no ponto C (ppm)	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	1	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LQ
III.9 Resultado de HPLC no ponto D (ppm)	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	-	-
III.10 Resultado de HPLC no ponto E (ppm)	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LQ	-	-
IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento						
IV.1 Validade da lavagem no ponto A	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.2 Validade da lavagem no ponto B	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.3 Validade da lavagem no ponto C	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.4 Validade da lavagem no ponto D	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.5 Validade da lavagem no ponto E	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.6 Resultado da validação de limpeza no equipamento	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida

**VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE AMOSTRAGEM NA INDÚSTRIA FARMACÉUTICA**

**Processo de validação de limpeza dos equipamentos de amostragem**

**Tabela 4-2 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina nas TNE**

<b>Produto</b>	Cloridrato de Tetraciclina
<b>Secção</b>	Transformações Não-Estéreis
<b>Equipamento</b>	Amostrador de 2 câmaras
<b>Data de utilização do equipamento</b>	08-06-2015
<b>Data de lavagem</b>	08-06-2015
<b>I. Execução de inspecção visual</b>	
I.1 Lavagem conforme a técnica	C
I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem	C
I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)	C
I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras	C
I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento	C
<b>II. Recolha de amostras</b>	
II.1 Amostra	1
II.2 Data da colheita de amostras	08-06-2015
<b>III. Colheita de amostras nos pontos críticos</b>	
III.1 Técnica de colheita de amostras	Swab
III.2 Tipo de análise	HPLC
III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)	0,1
III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,47
III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)	2,07
III.6 Resultado de HPLC no ponto A (ppm)	1,4
III.7 Resultado de HPLC no ponto B (ppm)	4,3
III.8 Resultado de HPLC no ponto C (ppm)	8,6
III.9 Resultado de HPLC no ponto D (ppm)	2,1
III.10 Resultado de HPLC no ponto E (ppm)	3,8
<b>IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>	
IV.1 Validade da lavagem no ponto A	Lavagem Válida
IV.2 Validade da lavagem no ponto B	Lavagem Não-Válida
IV.3 Validade da lavagem no ponto C	Lavagem Não-Válida
IV.4 Validade da lavagem no ponto D	Lavagem Não-Válida
IV.5 Validade da lavagem no ponto E	Lavagem Não-Válida
IV.6 Resultado da validação de limpeza no equipamento	Lavagem Não-Válida

Tabela 4-3 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina no Armazenamento de Matérias-Primas

<b>Produto</b>	Cloridrato de Tetraciclina			
<b>Secção</b>	Armazenamento de matérias-primas			
<b>Equipamento</b>	Amostrador de menor porte		Amostrador de maior porte	Amostrador de menor porte
<b>Data de utilização do equipamento</b>	18-06-2015	06-07-2015	17-07-2015	17-07-2015
<b>Data de lavagem</b>	18-06-2015	06-07-2015	17-07-2015	17-07-2015
<b>I. Execução de inspecção visual</b>				
I.1 Lavagem conforme a técnica	C	C	C	C
I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem	C	C	C	C
I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)	C	C	C	C
I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras	C	C	C	C
I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento	C	C	C	C
<b>II. Recolha de amostras</b>				
II.1 Amostra	1	2	3	4
II.2 Data da colheita de amostras	18-06-2015	06-07-2015	17-07-2015	17-07-2015
<b>III. Colheita de amostras nos pontos críticos</b>				
III.1 Técnica de colheita de amostras	Swab	Swab	Swab	Swab
III.2 Tipo de análise	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC
III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)	0,1	0,1	0,1	0,1
III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,47	0,47	0,47	0,47
III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)	7,5	7,5	7,5	7,5
III.6 Resultado de HPLC no ponto A (ppm)	Valor abaixo de LD	2,9	58	Valor abaixo de LD
<b>IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>				
IV.1 Validade da lavagem no ponto A	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Válida
IV.2 Resultado da validação de limpeza do equipamento	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Válida

**Tabela 4-4 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos auxiliares utilizados para a amostragem de Cloridrato de Tetraciclina no Armazenamento de Matérias-Primas**

Produto	Cloridrato de Tetraciclina					
Secção	Armazenamento de matérias-primas					
Equipamento	Colher de menor porte	Espátula de menor porte				
Data de utilização do equipamento	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015
Data de lavagem	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015
<b>I. Execução de inspecção visual</b>						
I.1 Lavagem conforme a técnica	C	C	C	C	C	C
I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem	C	C	C	C	C	C
I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)	C	C	C	C	C	C
I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras	C	C	C	C	C	C
I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento	C	C	C	C	C	C
<b>II. Recolha de amostras</b>						
II.1 Amostra	1	2	3	4	5	6
II.2 Data da colheita de amostras	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015	18-06-2015
<b>III. Colheita de amostras nos pontos críticos</b>						
III.1 Técnica de colheita de amostras	Swab	Swab	Swab	Swab	Swab	Swab
III.2 Tipo de análise	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC	HPLC
III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
III.6 Resultado HPLC no ponto A (ppm)	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD	Valor abaixo de LD
III.7 Resultado HPLC no ponto B (ppm)	Valor abaixo de LD	-	-	-	-	-
<b>IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>						
IV.1 Validade da lavagem no ponto A	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.2 Validade da lavagem no ponto B	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida
IV.3 Resultado da validação de limpeza no equipamento	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida	Lavagem Válida



Tabela 4-5 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de Trietilamina no Armazenamento de Matérias-Primas

<b>Produto</b>	Trietilamina				
<b>Secção</b>	Armazenamento de matérias-primas				
<b>Equipamento</b>	Pipetas de maior porte				
<b>Data de utilização do equipamento</b>	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
<b>Data de lavagem</b>	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
<b>I. Execução de inspecção visual</b>					
<b>I.1 Lavagem conforme a técnica</b>	C	C	C	C	C
<b>I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem</b>	C	C	C	C	C
<b>I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)</b>	C	C	C	C	C
<b>I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras</b>	C	C	C	C	C
<b>I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento</b>	C	C	C	C	C
<b>II. Recolha de amostras</b>					
<b>II.1 Amostra</b>	1	2	3	4	5
<b>II.2 Data da colheita de amostras</b>	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
<b>III. Colheita de amostras nos pontos críticos</b>					
<b>III.1 Técnica de colheita de amostras</b>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>
<b>III.2 Tipo de análise</b>	TOC	TOC	TOC	TOC	TOC
<b>III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)</b>	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
<b>III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)</b>	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
<b>III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)</b>	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
<b>III.6 Resultado TOC (ppm)</b>	0,90	0,70	9,86	8,92	8,92
<b>IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>					
<b>IV. 1 Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida

Tabela 4-6 - Resultados da validação de limpeza em equipamentos utilizados para a amostragem de l-lisina no armazenamento de matérias-primas

Produto	L-Lisina				
Secção	Armazenamento de matérias-primas				
Equipamento	Pipetas de maior porte				
Data de utilização do equipamento	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
Data de lavagem	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
<b>I. Execução de inspecção visual</b>					
I.1 Lavagem conforme a técnica	C	C	C	C	C
I.2 Desmontagem do equipamento para lavagem	C	C	C	C	C
I.3 Ausência de resíduos visíveis (pós, manchas, incrustações, detergentes)	C	C	C	C	C
I.4 Ambiente limpo e arrumado aquando da colheita de amostras	C	C	C	C	C
I.5 Completa funcionalidade mecânica e funcional do equipamento	C	C	C	C	C
<b>II. Recolha de amostras</b>					
II.1 Amostra	1	2	3	4	5
II.2 Data da colheita de amostras	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015	03-07-2015
<b>III. Colheita de amostras nos pontos críticos</b>					
III.1 Técnica de colheita de amostras	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>	<i>Rinse</i>
III.2 Tipo de análise	TOC	TOC	TOC	TOC	TOC
III.3 Limite de detecção (LD) (ppm)	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005
III.4 Limite de quantificação (LQ) (ppm)	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014
III.5 Limite de aceitação (LA) (ppm)	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
III.6 Resultado TOC (ppm)	35,66	39,06	35,79	30,69	31,18
<b>IV. Resultado da validação de limpeza do equipamento</b>					
IV.1 Resultado da validação de limpeza do equipamento	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida	Lavagem Não-Válida

### 4.3. Decisão sobre a validação da técnica de limpeza

Com o auxílio das tabelas apresentadas no subcapítulo anterior torna-se facilitada a tarefa de conseguir decidir acerca da validade da técnica de limpeza em equipamentos de amostragem praticada na empresa. Iniciando-se a análise pela Tabela 4-6 verifica-se que o procedimento de limpeza foi efectuado com eficácia, removendo todos os resíduos de **Limeciclina**. O mesmo cenário é contrariado pela Tabela 4-6, onde os resíduos de **Cloridrato de Tetraciclina** se demonstram ter permanecido no equipamento, em quantidades superiores ao limite de aceitação definido para este tipo de equipamentos. Ora analisando em pormenor os valores obtidos para esta amostragem é possível verificar que apenas no ponto A a lavagem se revelou eficaz, sendo que nos outros 4 pontos a mesma parece não ter removido os resíduos na totalidade. Isto pode ser um sinal de que a lavagem pode ter sido executada com uma proficiência não adequada sendo este factor determinante para a validade do procedimento.

Na necessidade de ser tomada uma decisão acerca da técnica de lavagem nos equipamentos de amostragem na secção das TNE, e tendo em conta a maioria válida dos resultados obtidos para as lavagens nos instrumentos deste sector, determina-se como **válida** a técnica de lavagem aplicada a este lote de materiais.

No que aos equipamentos de amostragem de matérias-primas sólidas diz respeito, e tendo em conta os resultados obtidos e presentes na Tabela 4-6 e na Tabela 4-6, é possível perceber que a técnica de lavagem removeu os resíduos de **Cloridrato de Tetraciclina** na maioria dos equipamentos utilizados, com a excepção de apenas um equipamento (o amostrador de maior porte, onde os valores de resíduo de Cloridrato de Tetraciclina foram os maiores – 58 ppm). Devido ao facto de existirem equipamentos auxiliares, onde o contacto com as matérias na altura da amostragem é muitas vezes reduzido o que diminui o risco de contaminação por via destes, entendeu-se dar um peso menor a estes equipamentos, aquando da tomada de uma decisão acerca da validade da técnica de lavagem. Ora, não obstante estas condições impostas, é permissível afirmar que a técnica de lavagem se determina como **válida** para esta tipologia de equipamentos de amostragem, ainda que exista um equipamento onde os resíduos de **Cloridrato de Tetraciclina** tenham permanecido acima do limite de aceitação devido a uma provável lavagem inadequada.

Relativamente aos equipamentos utilizados para a amostragem de matérias-primas líquidas, em todos os procedimentos de lavagem a técnica de lavagem não revelou ser eficaz para a remoção, na totalidade, de vestígios de carbono orgânico o que sugere que a técnica de lavagem pode necessitar de ser ajustada para a lavagem de materiais utilizados para amostragem deste tipo de

compostos. Analisando o primeiro caso (utilização de pipetas para a amostragem de **Trietilamina**), na Tabela 4-6, verifica-se que, para o limite de aceitação de 0,5 ppm (valor de TOC da água potável) os valores ultrapassam, em larga escala, os valores aceitáveis. Note-se que, para as duas primeiras amostragens deste, os valores de TOC se revelaram próximos do limite imposto, diferindo em larga medida, dos valores obtidos para as três amostragens seguintes. Este facto sugere que a lavagem pode ser ajustada, tornando-se válida, se existir uma alteração não muito acentuada na técnica (ex.: aumento do número de passagens por água), ou se se aumentar a proficiência do técnico de laboratório.

Para os resultados obtidos para os ensaios amostrais de equipamento utilizado na amostragem de **L-Lisina** (Tabela 4-6), verifica-se que existe uma elevada distância entre os valores obtidos com o valor do limite de aceitação. Este evento pode ser sugestivo de que possam existir resíduos de produto, ou mesmo vestígios de detergente de lavagem no equipamento, após o final da execução da técnica de limpeza aplicada a este instrumento.

Com efeito dos resultados e das análises individuais efectuadas para os equipamentos de amostragem de matéria-prima líquida, determina-se como **não-válida** a técnica de lavagem para a limpeza de equipamentos deste tipo.

Finalmente, no sentido de ser tomada uma decisão acerca da validade da limpeza dos equipamentos de amostragem na Cipan, tendo em conta os resultados obtidos, conclui-se que a limpeza dos equipamentos é **válida** apenas para quando os produtos amostrados são sólidos (tanto na secção das TNE, como na secção do armazenamento de matérias-primas). Para o caso dos produtos líquidos, a técnica pode não ser aplicável se não forem tidas em linha de conta as diferentes características de cada produto amostrado, o que pode ser fonte de contaminação cruzada. No entanto, caso as diferentes características dos produtos a amostrar sejam consideradas na altura da lavagem, sendo-se ajustados os procedimentos técnicos, a limpeza destes equipamentos poderá, eventualmente, tornar-se **válida**.

## 5. Conclusões

---



Este trabalho foi elaborado com o intuito de aferir se a limpeza dos equipamentos de amostragem praticada na Cipan se encontra válida, satisfazendo determinados parâmetros predefinidos. Foram recolhidas amostras de diversos tipos de instrumentos tanto no sector de armazenamento de matérias-primas (amostradores básicos de menor e maior porte, colheres e espátulas de menor porte e pipetas de maior porte) como no sector das TNE's (amostradores de 1 e 2 câmaras).

Para os amostradores de matérias-primas sólidas e para os amostradores de produto final as amostras foram recolhidas com recurso à técnica de *swabbing* sendo feitas análises de HPLC. Para os amostradores de matérias-primas líquidas recorreu-se à técnica de *rinsing* analisando-se as amostras por pesquisa de TOC.

Os valores obtidos da análise por HPLC aos *swabs* passados em amostradores de 1 e 2 câmaras (previamente sujos com Limeciclina e lavados de acordo com a técnica) foram, na sua maioria, inferiores ao LQ (incluindo-se aqui os inferiores ao LD) pelo que a técnica se revelou válida quando comparados estes valores com o LA definido (2,07 ppm).

No caso dos amostradores 2 câmaras sujos com Cloridrato de Tetraciclina, os resultados (1,4 ppm; 4,3 ppm; 8,6 ppm; 2,1 ppm e 3,8 ppm) se revelaram superiores ao LA pelo que a técnica não se revelou eficaz para a redução, até níveis aceitáveis, dos resíduos de Cloridrato de Tetraciclina. Este caso foi a única contrariedade à validade da lavagem e, por este motivo, não se entendeu como relevante este evento, admitindo-se que a validade da lavagem tenha sido prejudicada por acção humana, neste evento em particular.

Para a situação dos amostradores de menor porte, sujos com o composto anterior, dois dos resultados demonstraram-se ser inferiores ao LD sendo o outro igual a 2,9 ppm. Relativamente ao amostrador de maior porte, igualmente utilizado em Cloridrato de Tetraciclina, o resultado de 58 ppm foi obtido nas amostras de *swabbing* recolhidas. Comparando-se estes dados com o LA definido (7,5 ppm), decidiu-se pela validação da técnica de lavagem aplicada a estes equipamentos.

Os valores obtidos para o *swabbing* das colheres e das espátulas de menor porte, também utilizadas em Cloridrato de Tetraciclina, encontraram-se todos inferiores ao LD, apontando-se aqui também a validade da técnica de lavagem realizada.

As amostras de *rinse* de pipetas de maior porte utilizadas em Trietilamina foram, como referido anteriormente, submetidas a análise por TOC e os resultados (0,9 ppm; 0,7 ppm; 9,86 ppm e 8,92 ppm (em dois casos)) situaram-se todos acima do LA definido (0,5 ppm). No caso das pipetas sujas com L-Lisina (que resultaram em 35,66 ppm; 39,06 ppm; 35,79 ppm; 30,69 ppm e 31,18

ppm) a lavagem não reduziu o teor de TOC para níveis abaixo de LA. Em ambos os casos a lavagem não se revelou válida.

Quanto às análises de comportamento da instrumentação de TOC face a amostras diluídas de detergente de lavagem, tanto na gama de valores 2 (976,66 ppb; 4654,16 ppb; 8792,36 ppb; 10804,36 ppb e 14423,36 ppb), como na gama de valores 3 (33992,95 ppb; 42300,95 ppb; 47894,95 ppb; 57169,95 ppb e 81259,95 ppb), foi possível verificar a consistência de resultados obtidos para este tipo de amostras. Isto foi devido à linearidade verificada em cada gama de resultados, pelo que a instrumentação se demonstrou apta para este tipo de estudos.

Conforme é possível averiguar, pelos resultados enumerados, a validade da técnica de lavagem é condicionada pela metodologia de limpeza utilizada, ou seja, apenas aplicável consoante o material amostrado e consoante a aplicação da técnica de forma correcta, sendo por vezes necessário que se recorram a ajustes para que os materiais fiquem isentos de existir algum risco de contaminação cruzada, na altura da sua utilização.

Tendo em linha de consideração todos os procedimentos experimentais efectuados, bem como a recolha de amostras de *swab* e de *rinse*, em conjunto com cada procedimento técnico e com o procedimento que esteve na base de cálculo de limites, é possível afirmar que existe uma necessidade de serem ajustadas as metodologias de validação para as mesmas poderem ser aplicadas a equipamentos como os deste documento. Estes ajustes necessitam de ser efectuados com carácter urgente pois, devido à existência de um sério risco de contaminação cruzada entre lotes, tanto de produto-final, como de matéria prima, que podem por em causa o processo produtivo, bem como os produtos que seguem para clientes, acarretando consequências nefastas para as empresas envolvidas, existe uma pressão cada vez mais crescente por parte das entidades auditoras em assegurar que a validação dos equipamentos de amostragem seja efectuada.

Adicionalmente, verificou-se que existe uma acentuada falta de informação detalhada que sirva de base de apoio a estudos como o deste calibre, sendo que a informação existente focaliza o âmbito em equipamentos de produção, deixando por aflorar as outras tipologias de equipamentos que, como demonstrado no presente estudo, carecem igualmente de validação e de informação que sustente os estudos necessários ao tema. Note-se que, caso não exista uma consciencialização, no seio industrial, das necessidades anteriormente descritas, as adaptações para a realização deste tipo de trabalhos irão continuar a ser efectuadas, o que poderá ser traduzido em informação pouco detalhada e assente em justificações não muito concretas, resultando em estudos pouco certos e com resultados desacertados.



## 6. Trabalho futuro

---



Ainda que se tenha completado os pontos necessários a efectuar uma validação de limpeza completa, ficam alguns pontos que poderão ser abordados de forma a complementar os resultados obtidos neste estudo:

- Implementação do aumento do número de passagens por água de enxaguamento aos equipamentos de amostragem de produtos líquidos (no armazenamento);
- Execução de uma validação de limpeza dos equipamentos utilizando os piores casos determinados neste estudo;
- Análise microbiológica aos equipamentos de amostragem na secção das TNE;
- Análise microbiológica aos equipamentos de amostragem na secção de armazenamento de matérias-primas;
- Validação do *dirty-hold* time dos equipamentos de amostragem;
- Validação do *clean-hold* time dos equipamentos de amostragem;
- Análise aprofundada a águas de lavagem de equipamentos de amostragem de matérias-primas líquidas (HPLC) e consequente ajuste de cálculos de limites analíticos e ajuste dos critérios de validação utilizados.

A reanálise dos resultados do presente estudo e a consequente tomada de decisões poderá estar, de alguma forma, relacionada com os resultados obtidos nos estudos futuros pelo que se reserva às entidades e departamentos competentes a tomada de decisão no sentido de levar a cabo os trabalhos enumerados.

Mais se releva que qualquer explicação mais detalhada acerca de todos os procedimentos executados, bem como as notas de introdução teórica e similares, pode ser consultada directamente através das referências bibliográficas, presentes no capítulo seguinte.



## **7. Referências bibliográficas**

---



- [1] Health Sciences Authority, “GUIDE-MQA-008-008.” Jan-2013.
- [2] S. Alves, “IAPMEI - ‘Atral-Cipan - Concorrências fortes pressionam preços e consumos’, nº 3 - Maio 2005,” Maio de-2005.
- [3] Atral Cipan, “Atral Cipan - História,” Maio de-2015. [Online]. Available: [https://www.google.pt/webhp?sourceid=chrome-instant&rlz=1C1CAFB\\_enPT627PT627&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=atralcipan](https://www.google.pt/webhp?sourceid=chrome-instant&rlz=1C1CAFB_enPT627PT627&ion=1&espv=2&ie=UTF-8#q=atralcipan). [Accessed: 26-May-2015].
- [4] R. Teles and R. Gonçalves, “Controlo de Qualidade,” *Controlo de Qualidade*, 15-Apr-2008. [Online]. Available: <http://max.uma.pt/~a2050202/>. [Accessed: 24-Jun-2015].
- [5] L. W. King, “The Code of Hammurabi,” *Yale Law School - Lillian Goldman Law Library*, 2008. [Online]. Available: <http://avalon.law.yale.edu/ancient/hamframe.asp>. [Accessed: 11-Sep-2015].
- [6] J. C. Raymundo, “A História da Qualidade - A Revolução Industrial,” *Centro Paula Souza - A Historia da Qualidade*, 04-Aug-2010. [Online]. Available: <http://www.fatecpg.com.br/etec/lognew/bloglog/Lists/Postagens/Post.aspx?ID=20>. [Accessed: 24-Jun-2015].
- [7] B. K. Immel, “A brief history of the GMPs for pharmaceuticals,” *Pharm. Technol.*, vol. 25, no. 7, pp. 44–53, 2001.
- [8] International Conference on Harmonization, “ICH Guidelines - Q7.” 04-Nov-2010.
- [9] A. Walsh, “Cleaning Validation for the 21st Century: Acceptance Limits for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs): Part I,” *Pharmaceutical Engineering*, pp. 74 – 83, Aug-2011.
- [10] D. Farley, “Manufacturing - Court decision strengthens FDA’s regulatory power,” *Federal Drug and Administration*, Setembro-1993. [Online]. Available: <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/Manufacturing/ucm212214.htm>. [Accessed: 05-Jul-2015].
- [11] P. L. Pluta, S. Kalelkar, and J. Postlewaite, *Cleaning and Cleaning Validation*, vol. Vol. 2. Davis Healthcare International Publishing LLC, 2013.
- [12] T. Fugate and D. B. LaTart, “Pharmaceutical Cleaning: A Comprehensive Approach.” 18-Jan-2013.
- [13] Purdue Science, “Analyse Opportunity - Part 1 - Failure Modes Effect Analysis,” 18-Oct-2000.
- [14] Department of Defense - USA, “Military Standard - Procedures for performing a Failure Mode, Effects and Criticality Analysis - MIL-STD-1629A.” 01-Nov-1974.
- [15] B. Bergman and B. Klefsjö, *Quality: from customer needs to customer satisfaction*. Lund: Studentlitteratur, 2010.
- [16] L. G. Nunes and G. B. Faustino, “Modo de Falha e Análise do Efeito,” 13-Mar-2004.
- [17] C. Santos, “1ª Parte Formação de Validação de Limpeza,” Cipan S.A. - Companhia Industrial de Produção de Antibióticos, Maio-2013.
- [18] CIPProcess, “An Introduction to CIP, SIP, WIP and COP.”.
- [19] C. Santos, “2ª Parte Formação de Validação de Limpeza,” Cipan S.A. - Companhia Industrial de Produção de Antibióticos, Maio-2013.
- [20] Sambhujyoti Das and INTAS - Expressions for a Healthy Life, “CLEANING VALIDATION - Know – How of an Effective Cleaning Program,” 16-Aug-2006.
- [21] “Como determinar o visualmente limpo na validação de limpeza? - Farmaceuticas.” [Online]. Available: <http://www.farmaceuticas.com.br/como-determinar-o-visualmente-limpo-na-validacao-de-limpeza/>. [Accessed: 16-Aug-2015].

- [22] U.S Pharmacopeia, “Total Organic Carbon - USP29.” [Online]. Available: [http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0\\_c643.html](http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c643.html). [Accessed: 09-Aug-2015].
- [23] “Chapter 4 1.9 Total Organic Carbon(TOC) Analyzer.” [Online]. Available: [http://nett21.gec.jp/CTT\\_DATA/WMON/CHAP\\_4/html/Wmon-089.html](http://nett21.gec.jp/CTT_DATA/WMON/CHAP_4/html/Wmon-089.html). [Accessed: 10-Aug-2015].
- [24] Dawn Tavalisky and Sanofi Pasteur, “Setting Limits for Use in Cleaning Validation,” 27-Sep-2013.
- [25] Rafael Berbert Chust, “Introdução à Cromatografia de Líquidos (HPLC),” *Bol. SPQ*, no. 39, pp. 43–54.
- [26] J. Patera, P. Zámstný, G. Štípková, and Z. Bělohav, “Dirty-Hold Time Effect on the Cleaning Process Efficiency,” *Procedia Eng.*, vol. 42, pp. 431–436, 2012.
- [27] J. Carlson, “Clean Hold—Is Validation Really Required?,” *J. GXP Compliance*, vol. 14, no. 2, p. 40, 2010.
- [28] PHARMACEUTICAL INSPECTION CONVENTION, “Recommendations On Validation Master Plan Installation And Operational Qualification Non-Sterile Process Validation Cleaning Validation.” PIC/S Secretariat, 25-Sep-2007.
- [29] “Anvisa - Medicamentos - Glossário de Definições Legais.” [Online]. Available: [http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/glossario/glossario\\_v.htm](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/glossario/glossario_v.htm). [Accessed: 13-Aug-2015].
- [30] Cipan - Companhia Industrial de Produção de Antibióticos SA, “Instrução Técnica - Técnica de Amostragem.” .
- [31] Cipan - Companhia Industrial de Produção de Antibióticos SA, “Relatório - Validação do método de determinação de TOC.” .
- [32] “Tetracycline Hydrochloride (Professional Patient Advice) - Drugs.com.” [Online]. Available: <http://www.drugs.com/ppa/tetracycline-hydrochloride.html>. [Accessed: 04-Nov-2015].
- [33] “Tetracycline (Antibiotics) Uses, Dosage, Side Effects - Drugs.com.” [Online]. Available: <http://www.drugs.com/tetracycline.html>. [Accessed: 04-Nov-2015].
- [34] DrugBank, Ed., “Lymecycline,” *DrugBank*. .
- [35] NJ Health - New Jersey Department of Health, “Hazardous Substance Fact Sheet - Triethylamine.” Feb-2010.
- [36] “Lysine medical facts from Drugs.com.” [Online]. Available: <http://www.drugs.com/mtm/lysine.html>. [Accessed: 04-Nov-2015].
- [37] Cipan - Companhia Industrial de Produção de Antibióticos SA, “Instrução Técnica - Determinação do Carbono Orgânico Total, TOC.” .
- [38] Mettler-Toledo Thornton, Inc., “Conformidade de Águas Farmacêuticas com os Requisitos da Farmacopeia Global.” 2014-2013.



## **8. Anexo 1 – Tabelas auxiliares elaboradas**

---

Neste anexo encontram-se as tabelas necessárias ao cálculo dos limites analíticos (limites de aceitação) utilizados neste trabalho. As Tabelas 8-1 e 8-2 mostram os valores de  $L_2$  para as matérias primas sólidas. Nas Tabelas 8-3 e 8-4, encontram-se os valores de  $L_2$  para as matérias primas líquidas sendo que, para os princípios-ativos utilizados como matérias-prima, bem como para os produtos fabricados pela empresa, os valores de  $L_1$ ,  $L_2$ , e  $L_3$  encontram-se nas tabelas 8-6 a 8-13 (API's utilizados como matérias-primas) e 8-14 a 8-17 (API's produzidos nas TNE).



Tabela 8-1 – Cálculo de valores de  $L_2$  para matérias-primas sólidas

Matéria-prima	Espátula de menor porte	Espátula de maior porte	Colher de maior porte	Colher de menor porte	Amostrador básico de menor porte	Amostrador básico de maior porte	Amostrador de 5 câmaras	Amostrador de 3 câmaras
Ácido Oxálico	4,94E-04	7,13E-05	1,07E-05	3,01E-05	1,30E-05	8,14E-06	6,98E-03	6,01E-03
CBSA	6,59E-04	9,51E-05	1,42E-05	4,02E-05	1,73E-05	1,09E-05	9,31E-03	8,01E-03
PTSA	6,59E-04	9,51E-05	1,42E-05	4,02E-05	1,73E-05	1,09E-05	9,31E-03	8,01E-03
Bissulfito de Sódio	4,22E-03	6,09E-04	9,11E-05	2,57E-04	1,11E-04	6,95E-05	5,96E-02	5,12E-02
Carbonato de Cálcio	8,50E-03	1,23E-03	1,84E-04	5,18E-04	2,24E-04	1,40E-04	1,20E-01	1,03E-01
Carvão Ativado (2S/3S)	1,32E-02	1,90E-03	2,85E-04	8,03E-04	3,47E-04	2,17E-04	1,86E-01	1,60E-01
Cloreto de Amônio	1,86E-03	2,68E-04	4,02E-05	1,13E-04	4,89E-05	3,06E-05	2,63E-02	2,26E-02
Cloreto de Cálcio (Hexahidratado)	1,32E-03	1,90E-04	2,85E-05	8,03E-05	3,47E-05	2,17E-05	1,86E-02	1,60E-02
Cloreto de Cobalto	1,05E-04	1,52E-05	2,28E-06	6,43E-06	2,77E-06	1,74E-06	1,49E-03	1,28E-03
Cloreto de Ferro	1,19E-03	1,71E-04	2,56E-05	7,23E-05	3,12E-05	1,95E-05	1,68E-02	1,44E-02
Dextrose	2,64E-02	3,81E-03	5,70E-04	1,61E-03	6,93E-04	4,34E-04	3,72E-01	3,20E-01
DBAD	2,83E-03	4,09E-04	6,12E-05	1,73E-04	7,45E-05	4,67E-05	4,00E-02	3,44E-02
EDTA	2,35E-03	3,39E-04	5,07E-05	1,43E-04	6,17E-05	3,86E-05	3,31E-02	2,85E-02

Tabela 8-2 - Cálculo de valores de  $L_2$  para matérias-primas sólidas (continuação)

<b>Matéria-prima</b>	<b>Espátula de menor porte</b>	<b>Espátula de maior porte</b>	<b>Colher de maior porte</b>	<b>Colher de menor porte</b>	<b>Amostrador básico de menor porte</b>	<b>Amostrador básico de maior porte</b>	<b>Amostrador de 5 câmaras</b>	<b>Amostrador de 3 câmaras</b>
Fosfato Monopotássico	2,64E-03	3,81E-04	5,70E-05	1,61E-04	6,93E-05	4,34E-05	3,72E-02	3,20E-02
Paraformaldeído	8,83E-04	1,27E-04	1,91E-05	5,38E-05	2,32E-05	1,45E-05	1,25E-02	1,07E-02
Sulfato de Amônio	3,74E-03	5,40E-04	8,09E-05	2,28E-04	9,85E-05	6,17E-05	5,29E-02	4,55E-02
Sulfato de Cobre	3,95E-04	5,71E-05	8,54E-06	2,41E-05	1,04E-05	6,51E-06	5,59E-03	4,80E-03
Sulfato de Ferro	4,20E-04	6,07E-05	9,08E-06	2,56E-05	1,11E-05	6,93E-06	5,94E-03	5,11E-03
Sulfato de Magnésio	3,95E-03	5,71E-04	8,54E-05	2,41E-04	1,04E-04	6,51E-05	5,59E-02	4,80E-02
Sulfato de Níquel	3,95E-04	5,71E-05	8,54E-06	2,41E-05	1,04E-05	6,51E-06	5,59E-03	4,80E-03
Sulfato de Zinco	2,83E-03	4,09E-04	6,12E-05	1,73E-04	7,45E-05	4,67E-05	4,00E-02	3,44E-02
Ureia Técnica	1,45E-03	2,09E-04	3,13E-05	8,84E-05	3,81E-05	2,39E-05	2,05E-02	1,76E-02

Tabela 8-3 - Cálculo de valores de  $L_2$  para matérias-primas líquidas

Matéria-prima	Pipeta grande	Pipeta pequena	Pipetas de vidro com duas câmaras	Pipetas de vidro com uma câmara	Copo amostrador I	Copo amostrador II
2-Isopropoxyetanol	5,37E-02		5,90E-02	6,89E-02		
Acetato de Etilo	6,16E-02		6,76E-02	7,90E-02		
Acetona	3,29E-02		3,61E-02	4,22E-02		
Acetonitrilo	6,76E-03		7,43E-03	8,67E-03		
Ácido Clorídrico						1,63E-02
MSA	4,55E-03		5,00E-03	5,83E-03		
Ácido Nítrico	4,71E-03		5,18E-03	6,05E-03		
Ácido Ortofosfórico	1,38E-02		1,52E-02	1,77E-02		
Ácido Sulfúrico					5,25E-02	
Amónia	2,19E-02		2,41E-02	2,81E-02		
CPME	1,10E-02		1,20E-02	1,41E-02		
Cloreto de Amónio	1,58E-02		1,73E-02	2,02E-02		

Tabela 8-4 - Cálculo de valores de  $L_2$  para matérias-primas líquidas (continuação)

Matéria-prima	Pipeta grande	Pipeta pequena	Pipetas de vidro com duas câmaras	Pipetas de vidro com uma câmara	Copo amostrador I	Copo amostrador II
Cloreto de Cálcio	1,10E-02		1,20E-02	1,41E-02		
Cloreto de Paládio	2,96E-02		3,25E-02	3,80E-02		
Cloreto de Ródio	1,43E-02		1,57E-02	1,83E-02		
Contrapen BD/95	2,19E-02		2,41E-02	2,81E-02		
Dimetilformamida	3,33E-02		3,66E-02	4,27E-02		
Epícloridrina	9,87E-04		1,08E-03	1,27E-03		
Etanol	6,80E-02		7,46E-02	8,72E-02		
Formol		1,42E-02				
Glicerina	1,38E-01		1,52E-01	1,77E-01		
Hexano	3,69E-02		4,05E-02	4,73E-02		
Hidróxido de Sódio	5,48E-03		6,02E-03	7,03E-03		
Hipoclorito de Sódio	1,21E-02		1,32E-02	1,55E-02		
Isopropanol	1,19E-02		1,31E-02	1,53E-02		

Tabela 8-5 - Cálculo de valores de L2 para matérias-primas líquidas (continuação)

<b>Matéria-prima</b>	<b>Pipeta grande</b>	<b>Pipeta pequena</b>	<b>Pipetas de vidro com duas câmaras</b>	<b>Pipetas de vidro com uma câmara</b>	<b>Copo amostrador I</b>	<b>Copo amostrador II</b>
L-Lisina	1,10E-01		1,20E-01	1,41E-01		
Metanol	1,30E-02		1,43E-02	1,67E-02		
MIBK	2,28E-02		2,50E-02	2,92E-02		
Monoetilenoglicol	5,15E-02		5,66E-02	6,61E-02		
Pluriol	5,48E-03		6,02E-03	7,03E-03		
Quatarmin	1,64E-02		1,81E-02	2,11E-02		
Tert-Butilamina	5,09E-03		5,59E-03	6,52E-03		
Tolueno	6,97E-03		7,66E-03	8,94E-03		
Trietilamina	8,77E-03		9,63E-03	1,12E-02		
Tween 80	2,19E-01		2,41E-01	2,81E-01		

**Tabela 8-6 - Cálculo de valores de L<sub>1</sub> para API's utilizados como matéria-prima**

L <sub>1</sub>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		2083,33	500,00
	Cloridrato de Demeclociclina	120,00		120,00
	Cloridrato de Oxitetraciclina	5,00E+02	2,08E+03	

**Tabela 8-7 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores de 5 câmaras**

L <sub>2</sub> (Amostrador 5 Câmaras)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		6,04	6,04
	Cloridrato de Demeclociclina	2,98		2,98
	Cloridrato de Oxitetraciclina	6,32	6,32	

**Tabela 8-8 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de maior porte**

L <sub>2</sub> (Amostrador básico de maior porte)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		12,67	12,67
	Cloridrato de Demeclociclina	6,26		6,26
	Cloridrato de Oxitetraciclina	13,26	13,26	



**Tabela 8-9 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em amostradores básicos de menor porte**

L <sub>2</sub> (Amostrador básico de menor porte)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		20,24	20,24
	Cloridrato de Demeclociclina	10,00		10,00
	Cloridrato de Oxitetraciclina	21,18	21,18	

**Tabela 8-10 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de menor porte**

L <sub>2</sub> (Espátula de menor porte)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		769,37	769,37
	Cloridrato de Demeclociclina	380,21		380,21
	Cloridrato de Oxitetraciclina	805,15	805,15	

**Tabela 8-11 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em espátulas de maior porte**

L <sub>2</sub> (Espátula de maior porte)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		111,08	111,08
	Cloridrato de Demeclociclina	54,89		54,89
	Cloridrato de Oxitetraciclina	116,24	116,24	

**Tabela 8-12 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de maior porte**

<b>L<sub>2</sub> (Colher de maior porte)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		16,62	16,62
	Cloridrato de Demeclociclina	8,22		8,22
	Cloridrato de Oxitetraciclina	17,40	17,40	

**Tabela 8-13 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's utilizados como matéria-prima em colheres de menor porte**

<b>L<sub>2</sub> (Colher de menor porte)</b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Cloridrato de Demeclociclina	Cloridrato de Oxitetraciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		16,62	16,62
	Cloridrato de Demeclociclina	8,22		8,22
	Cloridrato de Oxitetraciclina	17,40	17,40	

**Tabela 8-14 - Cálculo de valores de L<sub>1</sub> para API's nas TNE**

<b>L<sub>1</sub></b>				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		500,00	383,91
	Oxitetraciclina Cálcica	500,00		383,91
	Limeciclina	651,2	651,2	

**Tabela 8-15 - Comparação de valores entre L<sub>1</sub> e 10 ppm para API's nas TNE**

mín (L <sub>1</sub> , 10 ppm)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		10,00	10,00
	Oxitetraciclina Cálcica	10,00		10,00
	Limeciclina	10,00	10,00	

**Tabela 8-16 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's nas TNE em amostradores de 1 câmara**

L <sub>2</sub> (Amostrador 1 câmara)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		11,54	11,54
	Oxitetraciclina Cálcica	0,64		0,64
	Limeciclina	0,67	0,67	

**Tabela 8-17 - Cálculo de valores de L<sub>2</sub> para API's nas TNE em amostradores de 2 câmaras**

L <sub>2</sub> (Amostrador 2 câmaras)				
		Produto B (a processar)		
		Cloridrato de Tetraciclina	Oxitetraciclina Cálcica	Limeciclina
Produto A	Cloridrato de Tetraciclina		46,93	46,93
	Oxitetraciclina Cálcica	2,59		2,59
	Limeciclina	2,73	2,73	



## **9. Anexo 2 – Protocolos e Relatórios Internos Elaborados**

---

Nesta secção figuram protocolos e relatórios internos elaborados durante a execução do estudo. Esta documentação é interna da empresa pelo que, por motivos de preservação de confidencialidade, foram omitidos desta dissertação.

